

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**KATEDRA FARMAKOGNOZIE**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**MIKROSKOPIE DROGY *LIQUIRITIAE RADIX* RŮZNÉHO PŮVODU.**

---

Microscopy of *Liquiritiae radix* of different origin.

Vypracovala: Alena Otisková

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Oponent diplomové práce: Doc. RNDr. Jiřina Dušková, CSc.

Datum zadání: 10. 12. 2008

Datum odevzdání: 15. 5. 2010

Datum obhajoby: 1. 6. 2010

## **Poděkování**

Toto poděkování patří zejména mé vedoucí diplomové práce Doc. RNDr. Jiřině Spilkové, CSc. za odbornou pomoc a veškerý čas, který mi věnovala při vypracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Doc. RNDr. Petrovi Klemmerovi, CSc. za cenné rady ke statistickému zpracování výsledků. Tato práce vznikla v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu SVV-2010-261-002.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a řádně citovány.“

V Hradci Králové, dne 30. 04. 2010

## Abstrakt

Mezi nejznámější druhy rodu *Glycyrrhiza* (*Fabaceae*) patří bezesporu *Glycyrrhiza glabra* L. Droga *Liquiritiae radix* je dle Českého lékopisu 2009 definována jako usušený neloupaný nebo loupaný, celý nebo řezaný kořen a výběžky druhu *Glycyrrhiza glabra* L. a/nebo *Glycyrrhiza inflata* BAT. a/nebo *Glycyrrhiza uralensis* FISH.

Práce shrnuje nejnovější poznatky o obsahových látkách, farmakologické aktivitě a využití vybraných druhů rodu *Glycyrrhiza*. Popsána je anatomická stavba kořenů resp. stolonů z rostlin *Glycyrrhiza pallidiflora* MAXIM., *Glycyrrhiza echinata* L. a *Glycyrrhiza uralensis* FISH pěstovaných v České republice. Zjištěny byly velikost a množství charakteristických útvarů (sklerenchymatická vlákna, skupiny lýkových vláken, krystaly šťavelanu vápenatého, cévy) v mikroskopických preparátech z drog. Součástí popisu anatomické stavby jsou mikrofotografie charakteristických znaků.

Srovnáním anatomické stavby na příčných řezech kořenů a stolonů byly mezi jednotlivými druhy zjištěny rozdíly v poměru korové a dřevní části, tloušťce a uspořádání lýkových vláken, množství krystalů šťavelanu vápenatého, uspořádání cév ve dřevě a šíři dřevných paprsků. V preparátech práškovaných drog nelze rozdíly zaznamenat. K rozlišení by mohlo být využito zjištěných rozdílů v počtu a velikosti skupin lýkových vláken a krystalů šťavelanu vápenatého.



## Abstract

One of the most widely known species of the genus *Glycyrrhiza* (*Fabaceae*) is without doubt *Glycyrrhiza glabra*. In the Czech Pharmacopoeia 2009 is the drug *Liquiritiae radix* defined as dried, unpeeled or peeled, whole or cut root and stolons of *Glycyrrhiza glabra* L. and/or *Glycyrrhiza inflata* BAT. and/or *Glycyrrhiza uralensis* FISH.

This thesis summarises the latest information about chemical compounds, pharmacological activity and use of some species of the genus *Glycyrrhiza* and focuses on microscopic characterization of the roots and stolons of *G. pallidiflora*, *G. echinata* and *G. uralensis*. There is a description of anatomy of the underground organs in transection, a description of microscopic elements of powdered drugs, a comparison of the amount of clusters of sclerenchymatic fibres, calcium oxalate crystals and of the size of sclerenchymatic fibres, clusters of sclerenchymatic fibres, calcium oxalate crystals and vessels among these three species. The microscopic description is attended by microphotos.

By the comparison of the anatomical structure of roots and stolons in transection among the observed species, some differences were found in the size ratio of bark and wood, in the size and location of clusters of sclerenchymatic fibres, in the amount of calcium oxalate crystals, in the location of vessels in wood and in the width of medullary rays. There were no differences found in the microscopy of powdered drugs. The measurements showed that the species vary in the size and the amount of clusters of sclerenchymatic fibres and calcium oxalate crystals.

# Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce .....	9
3	Teoretická část .....	10
3.1	Druhy rodu <i>Glycyrrhiza</i> .....	10
3.1.1	<i>Glycyrrhiza pallidiflora</i> MAXIM. ....	10
3.1.2	<i>Glycyrrhiza echinata</i> , L. ....	11
3.1.3	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISH .....	12
3.2	Chemotaxonomie rostlin rodu <i>Glycyrrhiza</i> .....	13
3.3	Makroskopická a mikroskopická identifikace drogy <i>Liquiritiae radix</i> .....	14
3.3.1	Makroskopie drogy .....	14
3.3.2	Mikroskopie drogy .....	14
3.4	Obsahové látky .....	16
3.4.1	Triterpenické saponiny .....	16
3.4.2	Fenolické sloučeniny .....	23
3.4.3	Další látky .....	29
3.5	Účinky .....	29
3.5.1	Antiulcerózní účinek .....	30
3.5.2	Protizánětlivý účinek .....	30
3.5.3	Hepatoprotektivní účinek.....	31
3.5.4	Protivirový účinek.....	31
3.5.5	Protinádorový účinek .....	31
3.6	Další využití lékořice .....	32
3.7	Nežádoucí účinky .....	33
3.8	Interakce .....	33
3.9	Kontraindikace .....	34
4	Praktická část .....	35
4.1	Materiál .....	35
4.2	Přístroje a pomůcky.....	35
4.3	Chemikálie .....	35
4.4	Příprava mikroskopických preparátů .....	36
5	Výsledky .....	38

5.1	Vyhodnocování mikroskopických preparátů .....	38
5.2	Mikroskopie práškované drogy .....	50
5.3	Počet a velikost charakteristických útvarů .....	53
5.3.1	Sklerenchymatická vlákna .....	54
5.3.2	Skupiny lýkových vláken.....	55
5.3.3	Krystaly šťavelanu vápenatého.....	56
5.3.4	Cévy .....	57
6	Diskuze.....	58
7	Závěr .....	61
8	Použitá literatura .....	62

# 1 Úvod

Lékořice je jednou z nejstarších a nejznámějších léčivých rostlin na světě. Uvádí se už na egyptských papyrech několik let před naším letopočtem jako lék na katary dýchacích cest a dnes má své místo v lékopisech mnoha zemí Evropy a Asie. (1, 2)

Rostliny rodu *Glycyrrhiza* jsou užívány na celém světě převážně pro své léčebné účinky. Uplatnění nacházejí také v potravinářském, tabákovém a kosmetickém průmyslu. Široké možnosti využití této drogy v terapii vedly k jejím důkladnému zkoumání. Byla popsána řada obsahových látek, které se více či méně podílejí na účincích lékořice. Avšak výrazná aktivita drogy s sebou nese také řadu vedlejších účinků, jak z hlediska negativního ovlivnění lidského organismu, tak i z hlediska interakce s jinými léčivými látkami.

V Evropě je nejznámějším druhem bezesporu *Glycyrrhiza glabra*, která byla po dlouhou dobu také jediným lékopisným druhem tohoto rodu. Zájem o drogu se však neustále zvyšoval a tak jediný druh již nestačil pokrývat poptávku trhu. Z tohoto důvodu bylo třeba zavést na trh i další druhy lékořice, které se svými vlastnostmi podobají původní lékopisné lékořici lysé.

Vedle lékopisných druhů *G. glabra*, *G. inflata*, *G. uralensis* existuje i řada dalších zajímavých druhů tohoto rodu. Některé z nich se zavádějí do pěstovaných kultur, např. *G. pallidiflora* a *G. echinata*.

K rozlišení jednotlivých druhů můžeme využít stanovení obsahu specifických sloučenin anebo mikroskopické identifikace. K hodnocení práškované drogy pomocí mikroskopu stačí malé množství vzorku a výsledek zkoušky bývá rychlý. K tomu, aby byl výsledek hodnocení správný, je nutné znát a umět poznat typické znaky drog, které se mohou v prášku vyskytovat. Je třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby nedošlo k záměně podobných struktur (např. sklerenchymatické vlákno – trichom). K identifikaci drogy může sloužit nejen přítomnost charakteristické struktury, ale i její absence.

## 2 Cíl práce

Cílem práce bylo popsat mikroskopické znaky kořenů lékořice z rostlin *Glycyrrhiza pallidiflora*, *Glycyrrhiza echinata* a *Glycyrrhiza uralensis* pěstovaných v České republice a zjistit, zda je možné identifikovat kořeny a stolony podle velikosti a množství charakteristických útvarů (sklerenchymatická vlákna, skupiny lýkových vláken, krystaly šťavelanu vápenatého, cévy).

### 3 Teoretická část

Název „*Glycyrrhiza*“ pochází z řeckého „*glykos-rhiza*“, což znamená sladký kořen. Toto pojmenování vzniklo na základě sladké chuti, kterou této rostlině poskytuje glycyrrhizin, hlavní obsahová látka kořene a stolonu některých druhů rodu *Glycyrrhiza*. (3)

Avšak ne všechny druhy lékořice obsahují glycyrrhizin ve větším množství. Tyto druhy se řadí do sekce *Pseudoglycyrrhiza*; patří sem *G. echinata* L., *G. foetida*, *G. lepidota*, *G. macedonica* a *G. pallidiflora* Maxim. (4)

#### 3.1 Druhy rodu *Glycyrrhiza*

Druhy rodu *Glycyrrhiza* jsou víceletými rostlinami patřící do čeledi *Fabaceae*. (3)

Patří sem asi 20 druhů rozšířených převážně v jižní Evropě a Asii, méně v Austrálii, Severní Americe a v austrálnímu pásu Jižní Ameriky. Nejrozšířenějšími druhy jsou *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra*, *G. inflata*, *G. glandulifera*, *G. aspera*, *G. eurycarpa*, *G. echinata*, *G. macedonica*, *G. pallidiflora*, *G. lepidota*. (1, 5, 6)

Jedná se o vytrvalé byliny s dlouhými, málo rozvětvenými kořeny a oddenky. Listy jsou lichozpeřené, lístky celokrajné. Květy v úžlabních, dlouze stopkatých hroznech. Plody tvoří nepukavé lusky. Semena jsou zploštělá. (5)

Lékořice se pěstuje v hluboké hlinitopísčité půdě, nejlépe v okolí vodních toků. Má ráda teplou polohu a množí se nejčastěji kořenovými odnožemi nebo výhonky vysazovanými zpravidla na podzim. Sběr je možno provádět na podzim (září, říjen, když rostliny shazují listy) od 3. až do 20. roku vegetace. (7)

Lékopisnou drogu poskytují *G. glabra* L., *G. uralensis* FISH a *G. inflata* BAT. Poptávka po droze se neustále zvyšuje a to je důvodem ke zkoumání nových, méně známých druhů.

Dovážené druhy se od sebe liší formou úpravy, loupáním, vzhledem, obsahovými látkami (např. obsahem glycyrrhizinu) a specifickou hmotností. (2)

##### 3.1.1 *Glycyrrhiza pallidiflora* MAXIM.

*Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim., původem z východní Sibiře, je méně známým druhem rodu *Glycyrrhiza*. Své druhové jméno získala nejspíše dle světlé barvy květu. Jedná se o vytrvalou bylinu, která roste především v centrální Asii, hlavně Číně, Mongolsku, ale také v Rusku. Japonsky se nazývá „inu-kanzo“ (psí lékořice). Téměř neobsahuje glycyrrhizin a je zatím bez většího lékařského a komerčního významu. (4, 8)

Obsahuje množství flavonoidů a isoflavonoidů, např. isoflavonoidní glykosidy wistin a ononin, aglykony afromosin, formononetin, flavanony liquiritigenin a isoflavan vestitol. Dále chalkony – echinatin, isoliquiritigenin a pro tento druh specifický glypallichalkon (4-hydroxy-2,4'-dimethoxy-chalkon). Vedle zmiňovaných obsahových látek obsahuje *G. pallidiflora* také kyselinu macedonovou,  $\beta$ -sitosterol, pterokarpan, dibenzoylmethany (licodion), 3-arylkumariny a další. (8 – 10)

Zatímco jiné druhy lékořice obsahují velké množství liquiritigeninu a isoliquiritigeninu, tak *G. pallidiflora* je téměř neobsahuje. Isoflavonoidy izolované z *G. pallidiflora* jsou jednoduché, na rozdíl od prenylovaných isoflavonoidů získaných z jiných druhů rodu *Glycyrrhiza*. (8)



Obrázek 1 *Glycyrrhiza pallidiflora* (11)

### 3.1.2 *Glycyrrhiza echinata*, L.

Pochází z jižní části Ruska a z Maďarska. Má podlouhlé listy, na koncích do kulata zašpičatělé, po stranách lehce zřasené. Na spodní straně listu jsou prohloubené žláznaté tečky. Na rozdíl od *G. glabra* téměř neobsahuje glycyrrhizin a tak má jen nepatrně sladkou chuť. (12)

Obsahuje echinatin (4,4'-dihydroxy-2-methoxychalkon) a dibenzoylmethan likodion, který je zřejmě jeho prekurzorem. Echinatin je neobvyklý chalkon, tzv. retrochalkon, protože

má přehozený kruh A a B. V přírodě je výskyt retrochalkonů vzácný, zatím byly nalezeny u *G. echinata*, *G. pallidiflora* a *G. inflata*. (8, 13)

*G. echinata* a *G. pallidiflora* jsou klasifikovány do sekce *Echinatae*. Tyto dva druhy jsou taxonomicky podobné a oba druhy obsahují retrochalkon a dibenzoylmethan. (8)



Obrázek 2 *Glycyrrhiza echinata* (14)

### 3.1.3 *Glycyrrhiza uralensis* FISH

*Glycyrrhiza uralensis* FISH je monokarpická rostlina (jen jednou za život vykvete, vytvoří semena a plody, poté hyne) s plazivým oddenkem a často lepkavými listy. Roste na Sibiři, v Kazachstánu, Mongolsku, Číně a centrální Asii. (3, 15)

Jedná se o hodnotnou nativní rostlinu široce užívanou v mnoha odvětvích hospodářství. Kořen a oddenek nachází uplatnění v lékařském a potravinářském průmyslu a jsou zahrnuty do lékopisů mnoha zemí. Nadzemní orgány lékořice (listy, stonky a květenství) jsou účinným lékem v lidovém léčitelství. (15)

Kořen obsahuje značné množství triterpenů (hlavně glycyrhizin, tvoří 6-15% obsahových látek), flavonoidů (1,5 – 4,5%), polysacharidů, lipidů (5,5%), alkaloidů a dalších látek. Mezi obsaženými flavonoidy se vyskytuje i isoflavon glyasperin C, který inhibuje enzym tyrosinazu a tím tvorbu melaninu. *G. uralensis* obsahuje stejně jako *G. pallidiflora* 3-arylkumariny. (8, 15)

Nadzemní orgány obsahují stejné biologicky aktivní substance ovšem s výjimkou glycyrhizinu. Reprodukční orgány lékořice obsahují alkaloidy, třísloviny a kumariny. (15)



Kořeny a stolony mají obdobné využití v terapii jako podzemní orgány rostliny *G. glabra*. (16)



Obrázek 3 *Glycyrrhiza uralensis* FISH (17)

### 3.2 Chemotaxonomie rostlin rodu *Glycyrrhiza*

Dle různého zastoupení obsahových látek, můžeme rozlišit různé druhy rodu *Glycyrrhiza*. Mezi takzvané chemotaxonomické markery můžeme zařadit lékořicový saponin H2, macedonosid-A a C, glabridin, glabren, glycykumarin, likochalkon A a B.

Druhy produkujícími glycyrhizin jsou *G. glabra*, *G. uralensis* a *G. inflata*, která navíc produkuje lékořicový saponin H2 a macedonosid-A. (6)

Mezi druhy tvořící macedonosid-C se řadí *G. macedonica*, *G. echinata* a *G. pallidiflora*. (6)

Mezi těmito dvěma skupinami se nachází *G. lepidota*, která obsahuje látky specifické jak pro první, tak i pro druhou skupinu. (6)

Z fenolických sloučenin můžeme pokládat za druhově specifické glabridin a glabren, které jsou pouze v *G. glabra*, glycykumarin specifický pouze pro *G. uralensis* a likochalkon A a B typický pro *G. inflata*. (1)

Pokud jde o šest hlavních látek v lékořici – glycyrhizin, liquiritin, liquiritin apiosid, isoliquiritin, isoliquiritin apiosid a liquiritigenin, tak jejich zastoupení v *G. glabra* se podobá tomu v *G. inflata*. Na druhé straně zastoupení látek v *G. uralensis* není podobné se zastoupením látek v *G. glabra* a *G. inflata* a je charakterizováno značným kolísáním obsahu

těchto šesti látek v porovnání s *G. glabra* anebo *G. inflata*. Průměrný obsah liquiritinu, isoliquiritinu, nebo liquiritigeninu v *G. uralensis* je značně vyšší než v *G. glabra* nebo *G. inflata*. (18)

Pro přesnou identifikaci lze jednotlivé druhy přesně určit podle genetické informace, na základě stanovení různých genetických markerů. (18)

### **3.3 Makroskopická a mikroskopická identifikace drogy *Liquiritiae radix***

Lékořicový kořen je dle Českého lékopisu 2009 definován jako usušený neloupaný nebo loupaný, celý nebo řezaný kořen a výběžky druhu *Glycyrrhiza glabra* L. a/nebo *G. inflata* BAT a/nebo *G. uralensis* FISH. Chuťové kvality loupané i neloupané drogy jsou rovnocenné, i když hořké látky bývají lokalizované především v korku a těsně pod ním. (2, 19)

#### **3.3.1 Makroskopie drogy**

Drogu tvoří kořeny a výběžky. Kořeny jsou 2 – 4 cm tlusté, dlouze větvenité, na povrchu hluboce brázdité. Výběžky jsou tvaru válcovitého, s povrchem hladším, silné zpravidla asi 1,5 cm. Kořeny a výběžky jsou na povrchu šedohnědé barvy, na lomu viditelně paprscité, s úzkou kůrou a širokým dřevem. Výběžky mají uprostřed širokou dřevň. Lom je dlouze vláknitý. (20)

##### Droga řezaná

Drogu tvoří tvrdé, snadno podélně štěpné kousky, které mají vláknitou strukturu, na povrchu kryté šedohnědým korkem a na řezných plochách lékopisných druhů sytě žluté barvy ve dřevní části. (20)

##### Droga prášková

Hnědavě žlutý prášek, má jemný charakteristicky nasládlý zápach a výrazně sladkou, až nepříjemně škrablavou chuť. (20)

#### **3.3.2 Mikroskopie drogy**

Kořen je zevně krytý několikavrstvovým hnědým korkem, pod ním je úzká primární kůra tvořena parenchymem, obsahujícím škrob a jednoduché krystaly šťavelanu vápenatého. V sekundární kůře jsou mezi dřevňovými paprsky pruhy keratenchymu, k nim přiléhají skupiny lýkových vláken s blanami silně ztlustlými, obklopené komůrkovými vlákny s krystaly šťavelanu vápenatého. Ve dřevě jsou velké, široké cévy, jednotlivé nebo

ve skupinách po dvou až čtyřech. Bývají provázeny tracheidami. Ve dřevě je množství skupin vláken libriformu s komůrkovými vlákny. Dřeňové paprsky jsou třířadé až osmiřadé. Parenchym obsahuje škrobová zrna (kulatá, vejčitá, větvenovitá až tyčinkovitá, 2-20µm velká) a roztroušeně jednotlivé krystaly šťavelanu vápenatého. Výběžky jsou charakteristické pro svou velkou dřev. (21)

#### Droga práškovaná

Prášková droga je charakterizována úlomky hnědého korku, žlutých sklerenchymatických vláken, která jsou spojena s úlomky komůrkových vláken. Lýková vlákna jsou protáhlá, mají tlustou stěnou a tečkovité lumeny a jsou ve svazcích nebo jednotlivě. Dále jsou přítomny úlomky sytě žlutých cév s dolíčky ve stěnách, kulatá, vejčitá nebo tyčinkovitá škrobová zrna a četné krystaly šťavelanu vápenatého. (20, 24)

#### **Anatomické útvary využitelné při identifikaci drog**

##### Sklerenchymatická vlákna

Jedná se o prosenchymatické buňky sklerenchymatického pletiva. Vedle sklerenchymatických vláken může být sklerenchym také jako sklereidy.

Buněčné stěny sklerenchymatických vláken jsou rovnoměrně ztlustlé po celém povrchu a to tak silně, že na příčném řezu se objevuje pouze malý centrální otvor. Vrstvení je většinou možné rozpoznat, i když ne tak zřetelně jako u kamenných buněk. Na podélném řezu můžeme vidět drobné tečky, štěrby. Safraninem se stěny barví červeně. (23)

Sklerenchymatické buňky plní v rostlině funkci mechanické opory. Buněčná stěna sklerenchymatických vláken se skládá z celulózy, hemicelulózy a ligninu. Dle množství uskladněného ligninu jsou vlákna více či méně elastická.

##### Skupiny lýkových vláken

V sekundární kůře lékořice se nacházejí pruhy keratenchymu. Jedná se o odumřelé sítkovce vyplněné kalózou. Na koncích pruhů keratenchymu jsou skupiny lýkových vláken. Tyto skupiny jsou tvořeny sklerenchymatickými vlákny a komůrkovými vlákny (sklerenchymatická vlákna obalená krystaly šťavelanu vápenatého). Takto uspořádané shluky lýkových vláken jsou typické pro lékořicový kořen a výběžek.

##### Krystaly šťavelanu vápenatého

Krystaly šťavelanu vápenatého se tvoří ve vakuolách aktivních rostoucích buněk. Jsou v idioblastech, které se mohou nacházet téměř ve všech částech rostliny, což zahrnuje jak

vegetativní, tak i reprodukční orgány. Často se vyskytují vedle cév, možná z důvodu transportu vápníku xylémem a občas bývají přidruženy ke vzduchovým prostorům. (25)

Šťavelan je antinutrient a toxin přítomný v mnoha požitelných rostlinách; vápník na sebe váže takovým způsobem, že se stává pro lidský organismus nedostupným. (26)

### Cévy

Cévy neboli tracheje jsou trubicovité útvary vzniklé spojením protáhlých buněk nad sebou. Jejich protoplast odumřel a jejich buněčné stěny se v místě styku rozpustily. Cévy uskutečňují vzestupný transport – z kořenů vedou do stonku a do listů vodu s rozpuštěnými minerálními látkami. Stěny cév bývají charakteristicky ztloustlé (kruhovitě, šroubovitě, tečkovitě, schodovitě) a mají též zpevňovací funkci. (27)

## **3.4 Obsahové látky**

Kořeny a stolony lékořice obsahují více než 100 různých sloučenin, z nichž některé jsou obsaženy ve velkém množství. (28)

Z lékořice byla izolována řada účinných látek, které tvoří 40-50% hmotnosti sušiny. Tento komplex tvoří triterpenické saponiny, fenolické sloučeniny (flavonoidy, kumariny), polysacharidy, pektin, jednoduché cukry, aminokyseliny, lipidy, minerální soli, silice, stopové prvky a mnoho jiných látek. (29)

Nejdůležitějšími z nich jsou triterpenické saponiny (glycyrrhizin) a fenolické sloučeniny.

### **3.4.1 Triterpenické saponiny**

*Glycyrrhiza glabra* L. var. *glabra*, *Fabaceae* je považována za modelovou rostlinu syntetizující triterpenoidní sekundární látky. (28)

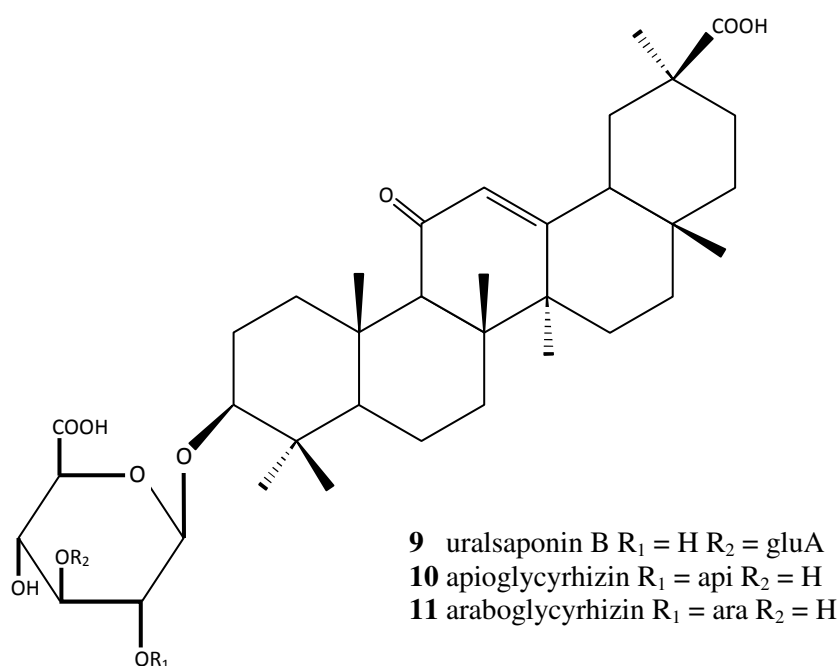
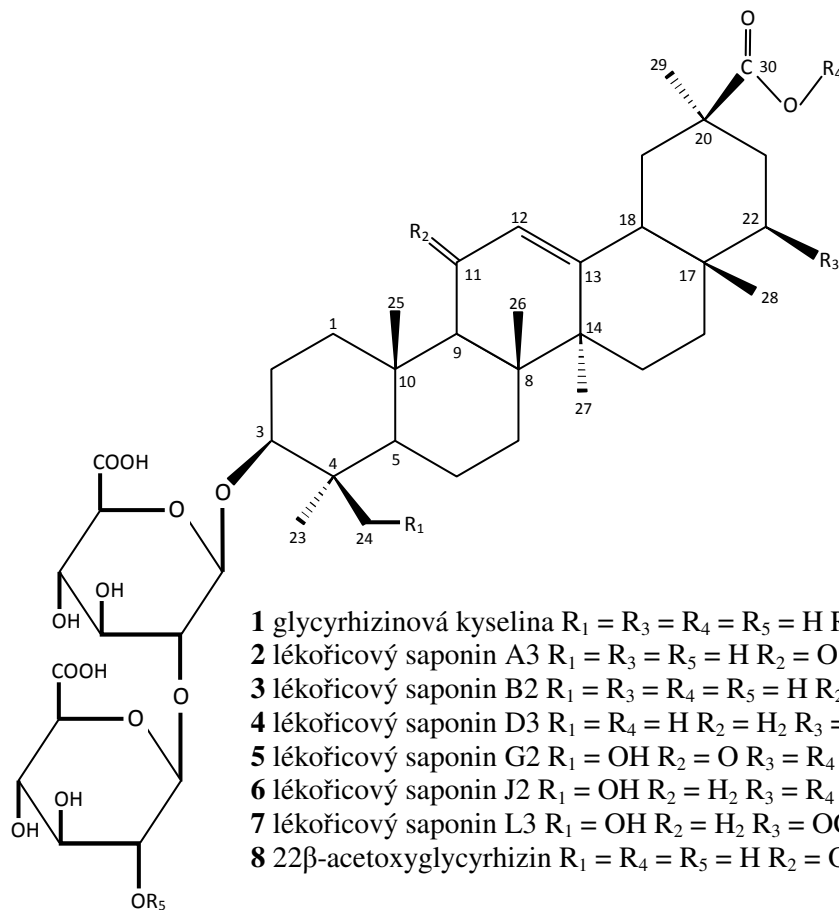
Triterpenické saponiny jsou zodpovědné za sladkou chuť lékořice a zároveň jsou hlavní obsahovou látkou lékořice. Dosud bylo získáno nejméně 18 saponinů z druhů *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra* a *G. inflata*. Většina těchto saponinů je v lékořici přítomna ve formě glukuronidů, viz vzorce **1 – 18**. (1)

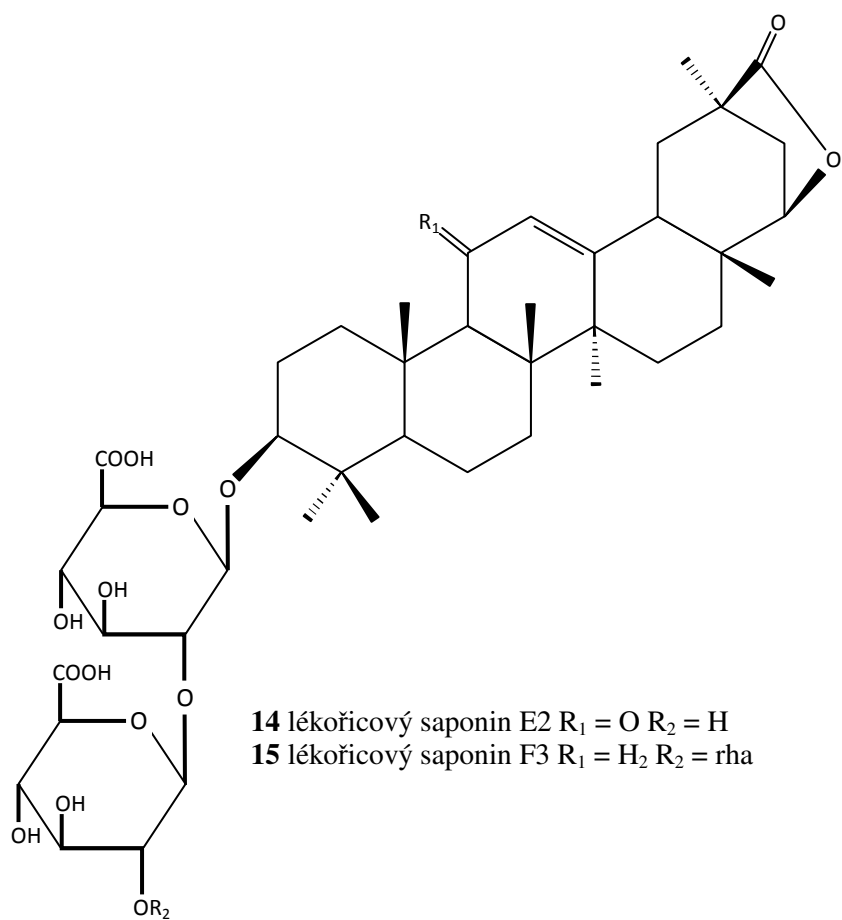
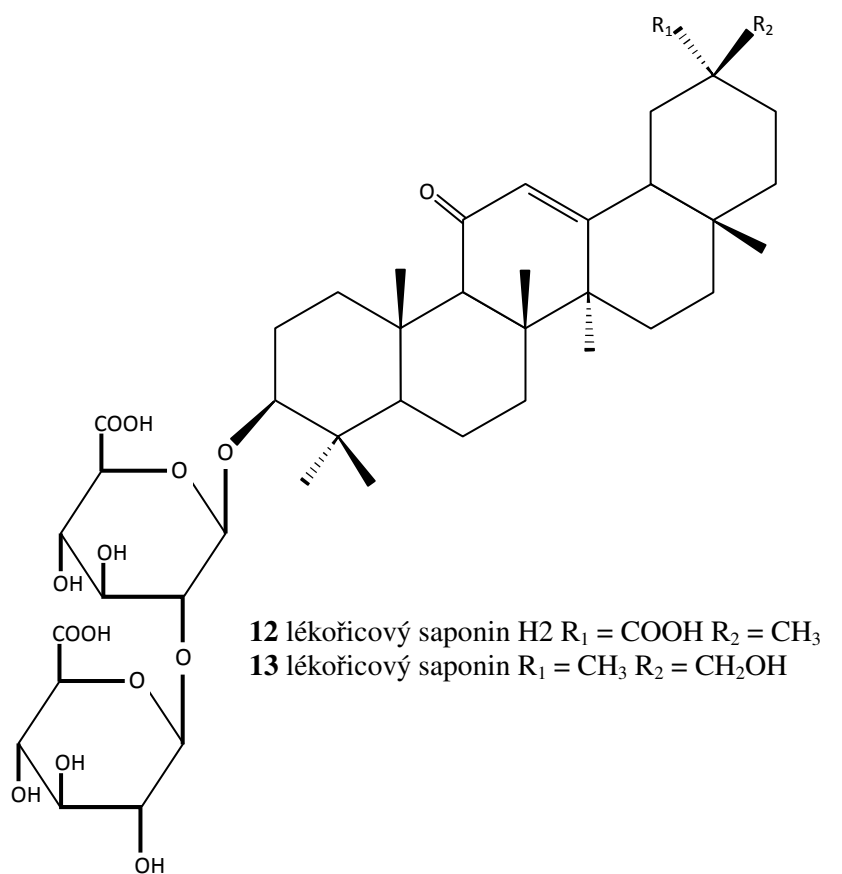
Aglykony jsou pentacyklické triterpeny oleananového typu s 11-oxo-12-en, 12-en, 11, 13 (18)-dien nebo 9 (11), 12-dien skelety, a 3 $\beta$ -OH, 24-OH, 22 $\beta$ -acetoxy, 30-COOH nebo 29-COOH jako funkčními skupinami. Sloučeniny **14** a **15** obsahují jedinečné laktonové kruhy mezi 30-COOH a 22-OH. (1)

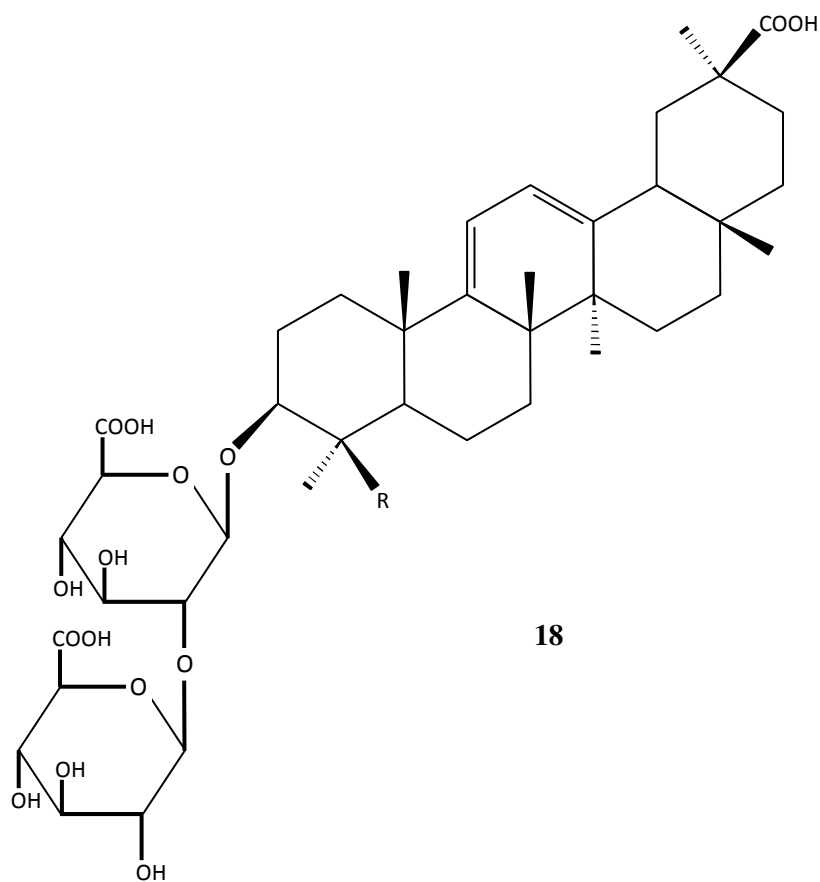
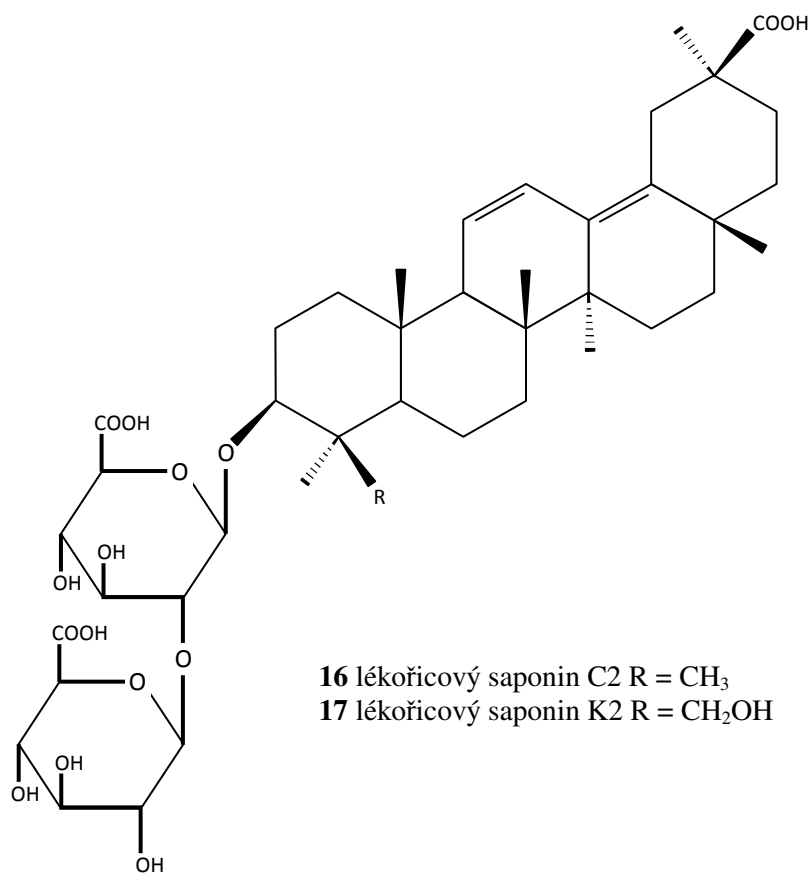
Zkratky použité ve vzorcích:

ara:  $\alpha$ -L-arabinopyranosyl; api:  $\beta$ -D-apiofuranosyl; glu:  $\beta$ -D-glucopyranosyl;

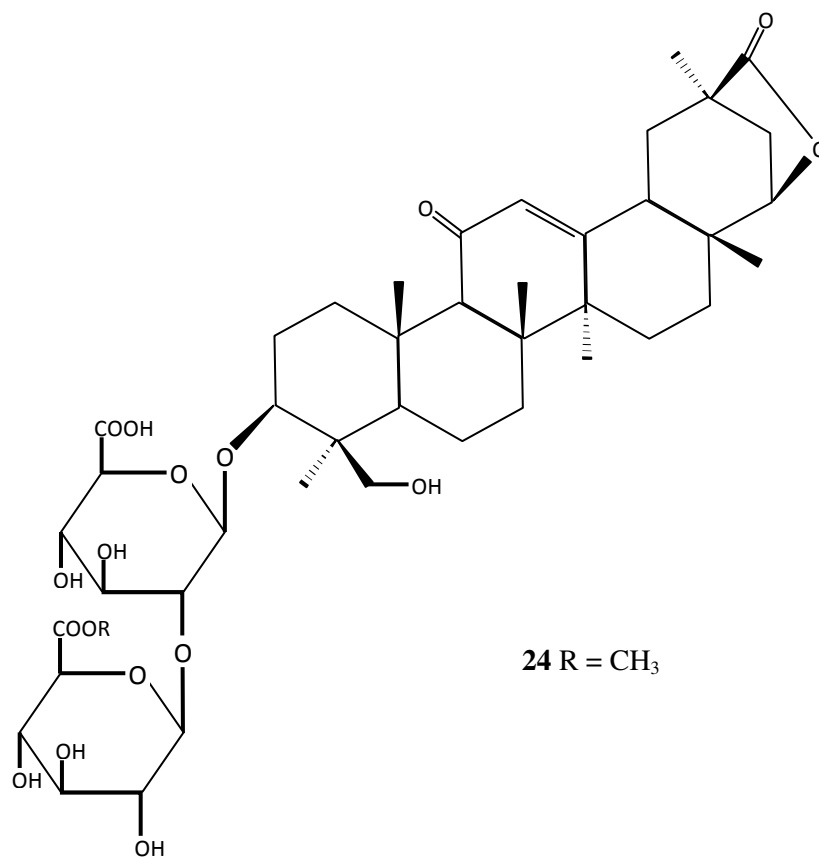
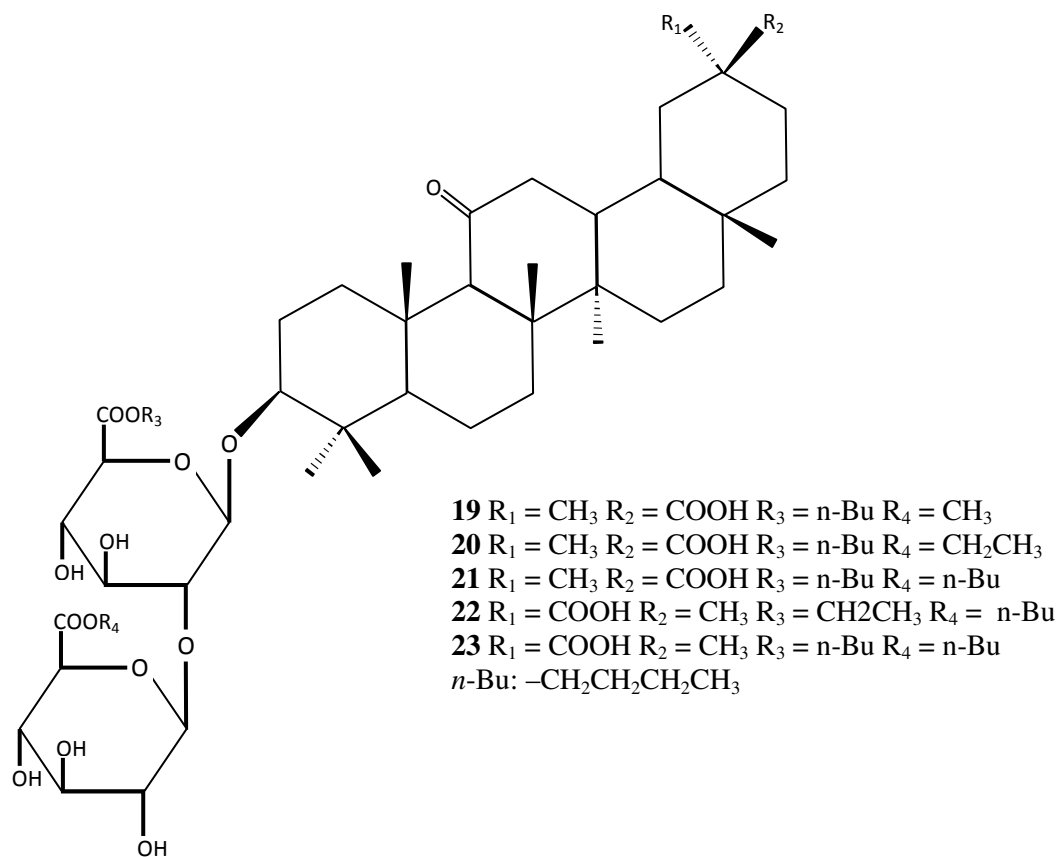
gluA:  $\beta$ -D-glucuronopyranosyl; rha:  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl







Byly izolovány i estery a to řada methyl-, ethyl- nebo butyl- esterů. Zřejmě se ale jedná o artefakty vzniklé v průběhu procesu extrakce a čištění, viz vzorce **19 – 24**. (1)





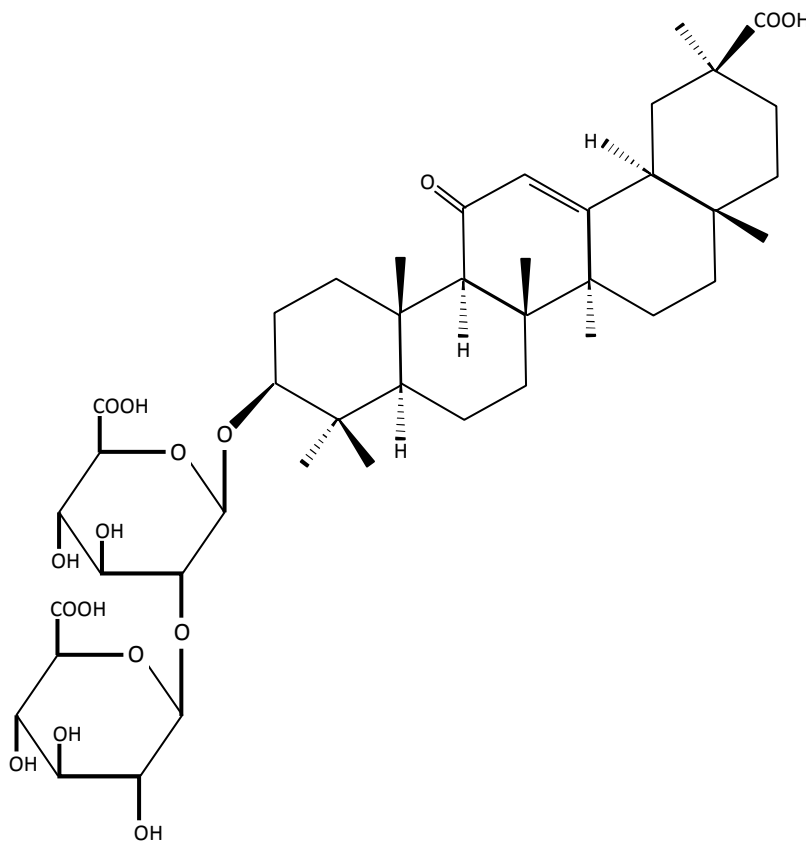
Pro podobnost struktury kyseliny glycyrrhetinové a glycyrrhizinové se strukturou hormonů kůry nadledvinek, vyvolávají vyšší dávky drogy mineralokortikoidní a glukokortikoidní účinky. (29)

Mezi triterpenickými saponiny se nachází hlavní účinná látka kořene lékořice – glykosid glycyrrhizin.

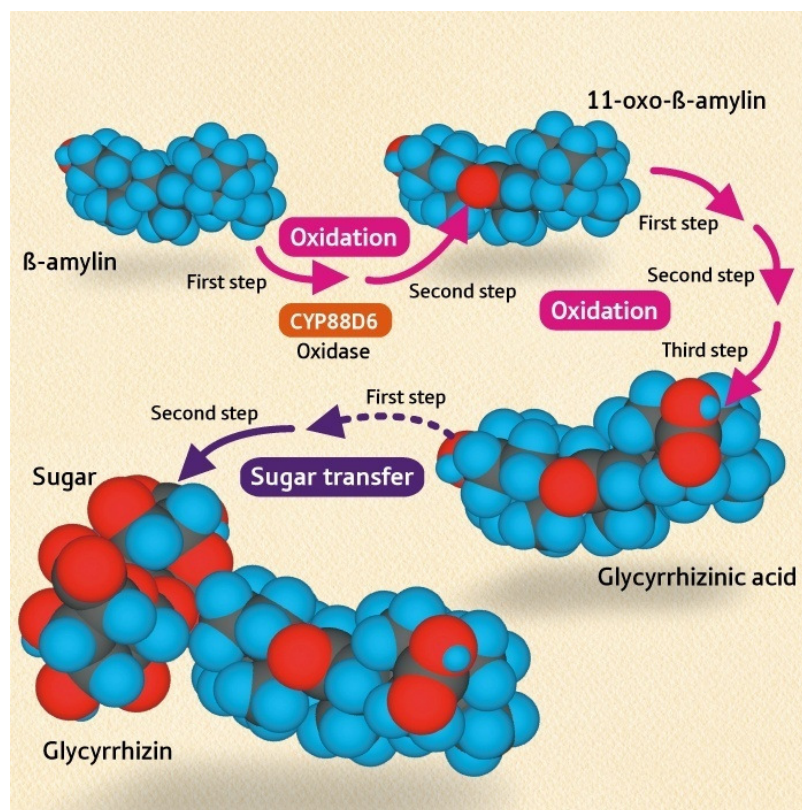
### Glycyrrhizin

Glycyrrhizin je triterpenický saponin oleananového typu, který má řadu farmakologických účinků a je ve světě hojně používán jako sladidlo. Díky jeho ekonomickému významu, byla biosyntéze glycyrrhizinu věnována vysoká pozornost. (30)

Glycyrrhizin je tvořený jednou molekulou kyseliny 18 $\beta$ -glycyrrhetinové a dvěma molekulami kyseliny D-glukuronové. Aglykon steroidního charakteru 18 $\beta$ -glycyrrhetin (kyselina glycyrrhetinová) má kruhy D a E cis-anelované. Cukernou složku tvoří dvě molekuly kyseliny  $\beta$ -D-glukuronové. Odštěpením cukerné složky ztrácí glycyrrhizin sladký charakter. Kyselina glycyrrhetinová není sladká. (2, 7, 29)



glycyrrhizinu zahrnují sérii oxidativních reakcí na pozici C-11 a C-30. Následuje přenos glykosylu na hydroxylovou skupinu na uhlíku C-3. Za produkci glycyrrhizinu je nejspíše odpovědný gen CYP88D6, exprimovaný pouze v kořenech a stolonech. (30) (Obr. 4)



Obrázek 4 Syntéza glycyrrhizinu (31)

Glycyrrhizin se akumuluje v silných a neporušených kořenech lékořice. Loupaná droga obsahuje méně glycyrrhizinu než droga neloupaná. Glycyrrhizin je látka kyselé povahy, proto se správněji označuje jako kyselina glycyrrhizinová. Pění vodu, ale hemolytickou účinnost má nízkou. (2, 7, 28)

V současnosti je získáván z pěstovaných nebo divoce rostoucích rostlin rodu *Glycyrrhiza*. Mezi hlavní zdroje glycyrrhizinu na světě patří *G. glabra* L., *G. uralensis* FISH a *G. inflata* BATALL. Obsah silně kolísá podle ročního období a podle místa původu drogy. V rostlině se vyskytuje ve formě draselné nebo vápenaté soli. (2)

Nadměrné využívání divoce rostoucí lékořice vedlo ke snížení přírodních nalezišť. Sběr divoce rostoucí lékořice byl omezen, avšak množství pěstované lékořice nestačí pokrýt poptávku. Proto je pozornost řady pracovišť zaměřená na hledání způsobu, jak zvýšit obsah glycyrrhizinu v kořenech pěstovaných rostlin rodu *Glycyrrhiza* a získání linií, které produkují velké množství glycyrrhizinu. (3)

Glycyrrhizin je 50x sladší než sacharóza. Zjemňuje slanost jídla, zvýrazňuje chuť a je termostabilní. Glycyrrhizin, především jeho amonná sůl a extrakty z lékořice se užívají jako potravinářská aditiva v řadě běžných produktů, jako jsou např. instantní nudle, omáčky, zmrzlina, zákusky, nápoje, žvýkačky, pendreky, bylinné čaje, nealkoholické nápoje. Dále zlepšuje chuťové vlastnosti některých léků, tvoří přísadu v likérech a je pěnivou složkou limonád. (2, 3, 7, 32)

V Japonsku je glycyrrhizin lékem vázaným na předpis v terapii jater a alergických onemocnění. Je vyráběn jak v injekční formě, tak jako tablety. (3)

Po perorálním podání je absorpce glycyrrhizinu ze střeva minimální. Působením střevních bakterií je glycyrrhizin hydrolyzován na glycyrrhetinovou kyselinu a  $3\beta$ -monoglukuronyl- $18\beta$ -glycyrrhetinovou kyselinu, které jsou ze střeva dobře absorbovány. Ani glycyrrhizin ani kyselina glycyrrhetinová se nehromadí ve tkáních, ale značně se vážou na sérový albumin. Metabolizují se v játrech a jsou vylučovány žlučí. Takto vyloučené metabolity jsou pravděpodobně opětovně metabolizovány střevní flórou, což umožňuje jejich enterohepatální cirkulaci. Kompletní vyloučení kyseliny glycyrrhetinové z organismu tak může trvat i několik dní, byť pro jednu dávku. Biodostupnost glycyrrhizinu z lékořice je o mnoho nižší, než při podání čisté sloučeniny. (33)

### 3.4.2 Fenolické sloučeniny

Vedle saponinů jsou významnými obsahovými látkami také fenolické sloučeniny, mezi které patří především flavonoidy a kumariny.

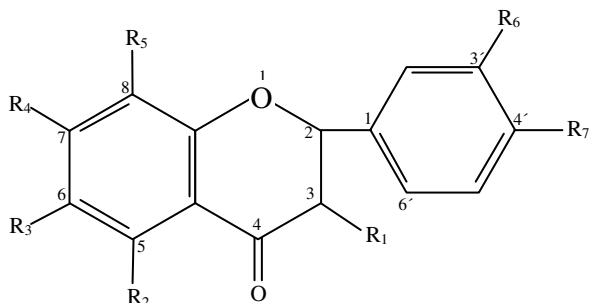
#### Flavonoidy

Z různých druhů rostlin rodu *Glycyrrhiza* bylo izolováno více než 300 flavonoidů. Jedná se o flavonoidy různých typů, jako jsou flavanony nebo flavanonoly **25 – 32**, chalkony **33 – 39**, isoflavany **40 – 46**, isoflaveny **47**, flavony nebo flavonoly **48 – 52**, isoflavony **53 – 59** a isoflavanony **60 – 63**. (1)

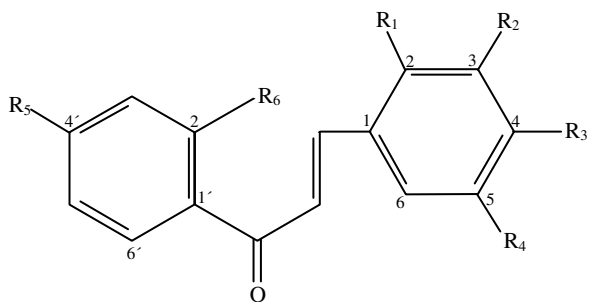
K nejvýznamnějším z nich patří flavanony a chalkony. Řada těchto flavonoidů je substituovaná isoprenylovou skupinou, což může vést k vytvoření pyranového kruhu s hydroxylovou skupinou. Vzorce **25 – 63** znázorňují charakteristické flavonoidy lékořice. (1)

Zkratky použité ve vzorcích:

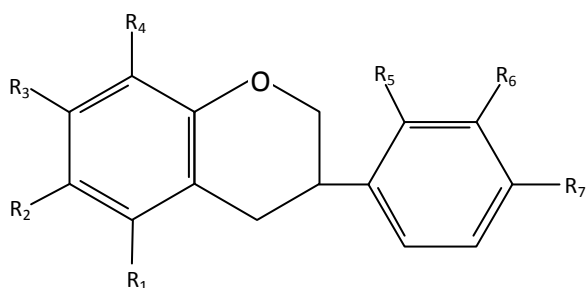
api:  $\beta$ -D-apiofuranosyl; glc:  $\beta$ -D-glucopyranosyl; rha:  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl.



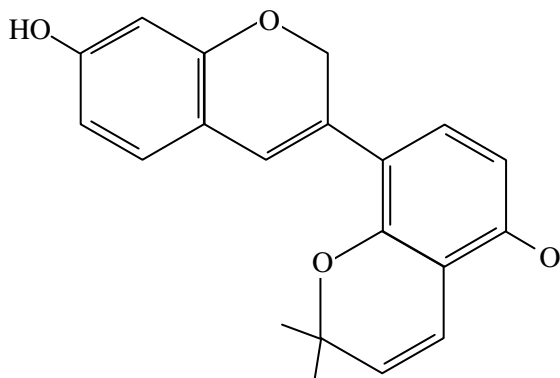
- 25** liquiritigenin  $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = R_7 = OH$   
**26** liquiritin  $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = OH$   $R_7 = -O-glc$   
**27** liquiritigenin-7,4-diglukosid  $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = R_7 = -O-glc$   
**28** rhamnoliquiritin  $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = OH$   $R_7 = -O-rha$   
**29** liquiritin apiosid  $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = OH$   $R_7 = -O-glc-2-1-api$   
**30** glabranin  $R_1 = R_3 = R_6 = R_7 = H$   $R_2 = R_4 = OH$   $R_5 = CH_2CH=CCH_{32}$   
**31** glabrol  $R_1 = R_2 = R_3 = H$   $R_4 = R_7 = OH$   $R_5 = R_6 = CH_2CH=CCH_{32}$   
**32** likoflavanon  $R_1 = R_3 = R_5 = H$   $R_2 = R_4 = R_7 = OH$   $R_6 = CH_2CH=CCH_{32}$



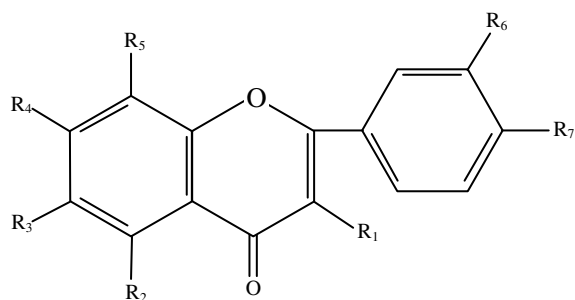
- 33** isoliquiritigenin  $R_1 = R_2 = R_4 = H$   $R_3 = R_5 = R_6 = OH$   
**34** isoliquiritin  $R_1 = R_2 = R_4 = H$   $R_3 = -O-glc$   $R_5 = R_6 = OH$   
**35** neoisoliquiritin  $R_1 = R_2 = R_4 = H$   $R_3 = R_6 = OH$   $R_5 = -O-glc$   
**36** rhamnoisoliquiritin  $R_1 = R_2 = R_4 = H$   $R_5 = R_6 = OH$   $R_3 = -O-glc-2-1-rha$   
**37** likurasid  $R_1 = R_2 = R_4 = H$   $R_3 = R_6 = OH$   $R_5 = -O-glc-2-1-rha$   
**38** likochalkon A  $R_1 = OCH_3$   $R_2 = R_6 = H$   $R_3 = R_5 = OH$   $R_4 = -CCH_{32}CH=CH_2$   
**39** likochalkon B  $R_1 = OCH_3$   $R_4 = R_6 = H$   $R_2 = R_3 = R_5 = OH$



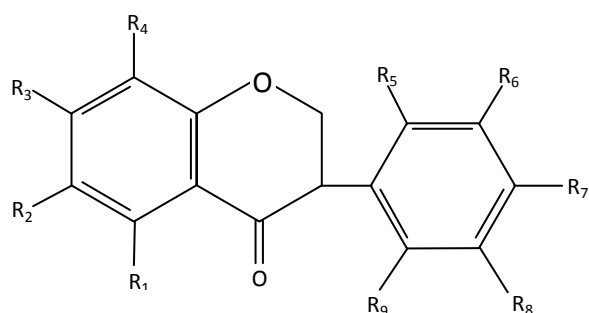
- 40** glabridin  $R_1 = R_2 = R_6 = H$ ,  $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$ ,  $R_5 = R_7 = OH$   
**41** 4'-O-methylglabridin  $R_1 = R_2 = R_6 = H$ ,  $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$ ,  $R_5 = OH$ ,  $R_7 = OCH_3$   
**42** 3'-O-methylglabridin  $R_1 = R_2 = R_7 = H$ ,  $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$ ,  $R_5 = OH$ ,  $R_6 = OCH_3$   
**43** likoricidin  $R_1 = OCH_3$ ,  $R_2 = R_6 = -CH_2CH=CCH_{32}$ ,  $R_4 = H$ ,  $R_3 = R_5 = R_7 = OH$   
**44** 7-methyllikoricidin  $R_1 = R_3 = OCH_3$ ,  $R_2 = R_6 = -CH_2CH=CCH_{32}$ ,  $R_4 = H$ ,  $R_5 = R_7 = OH$   
**45** hispaglabridin A  $R_1 = R_2 = H$ ,  $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$ ,  $R_5 = R_7 = OH$ ,  $R_6 = CH_2CH=CCH_{32}$   
**46** hispaglabridin B  $R_1 = R_2 = H$ ,  $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$ ,  $R_5 = OH$   
 $R_6, R_7 = 3'-CH=CHCCH_{32}-O-4'$



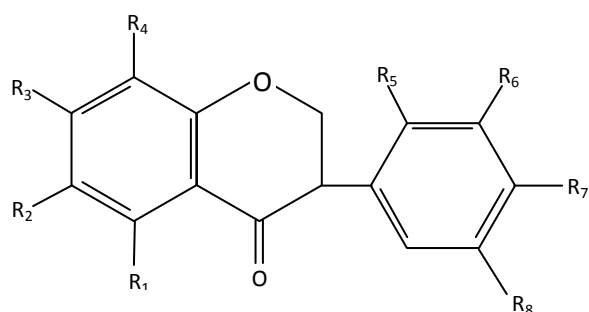
**47** glabren



- 48** likoflavon A  $R_1 = R_2 = R_5 = H$   $R_3 = R_6 = -CH_2CH=CCH_{32}$   $R_4 = R_7 = OH$   
**49** likoflavon B  $R_1 = R_3 = R_6 = H$   $R_2 = R_4 = R_7 = OH$   $R_5 = -CH_2CH=CCH_{32}$   
**50** likoflavon C  $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = H$   $R_4 = R_7 = OH$   $R_3 = -CH_2CH=CCH_{32}$   
**51** likoflavanol  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = OH$   $R_3 = -CH_2CH=CCH_{32}$   $R_6 = H$   
**52** isolikoflavanol  $R_1 = R_2 = R_4 = R_7 = OH$   $R_3 = R_5 = H$   $R_6 = -CH_2CH=C(CH_3)_2$

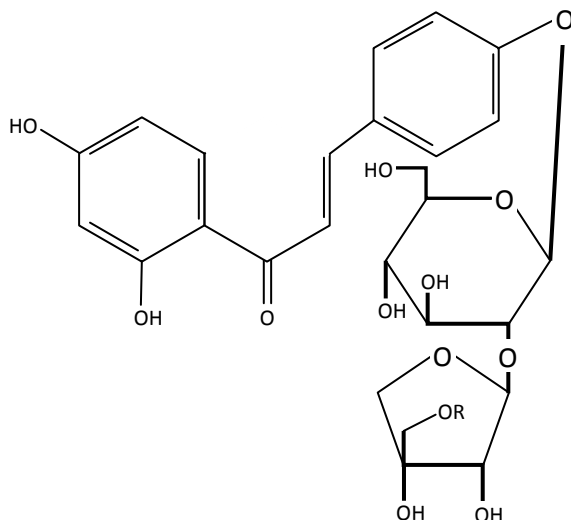


- 53** glabron  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$   $R_3 = R_9 = OH$   $R_7, R_8 = 3'-CH=CHCCH_{32}-O-4'$   
**54** glycyrrhisoflavon  $R_1 = R_3 = R_6 = R_7 = OH$   $R_2 = R_4 = R_5 = R_9 = H$   $R_8 = -CH_2CH=CCH_{32}$   
**55** likoisoflavon A  $R_1 = R_3 = R_5 = R_7 = OH$   $R_2 = R_4 = R_8 = R_9 = H$   $R_6 = -CH_2CH=CCH_{32}$   
**56** likoisoflavon B  $R_1 = R_3 = R_5 = OH$   $R_2 = R_4 = R_8 = R_9 = H$   $R_6, R_7 = 3'-CH=CHCCH_{32}-O-4'$   
**57** likorikon  $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = H$   $R_3 = R_5 = OH$   $R_7 = R_9 = OCH_3$   $R_8 = -CH_2CH=CCH_{32}$   
**58** gancaonin H  $R_1 = R_3 = R_6 = OH$   $R_2 = -CH_2CH=CCH_{32}$   $R_4 = R_5 = R_9 = H$   $R_7, R_8 = 3'-CH=CHCCH_{32}-O-4'$   
**59** gancaonin G  $R_1 = R_7 = OH$   $R_2 = -CH_2CH=C(CH_3)_2$   $R_3 = OCH_3$   $R_4 = R_5 = R_6 = R_8 = R_9 = H$

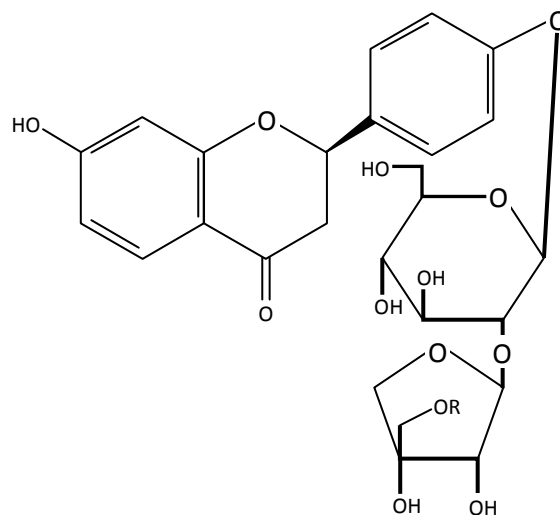


- 60** glyzaglabrin  $R_1 = R_2 = R_4 = R_8 = H$   $R_3 = R_5 = OH$   $R_6, R_7 = -O-CH_2-O-$   
**61** likoisoflavanon  $R_1 = R_3 = R_5 = OH$   $R_2 = R_4 = R_8 = H$   $R_6, R_7 = 3'-CH=CHCCH_{32}-O-4'$   
**62** glabroisoflavanon A  $R_1 = R_2 = R_6 = R_8 = H$   $R_3, R_4 = 7-O-CCH_{32}CH=CH-8$   $R_5 = R_7 = OH$   
**63** glabroisoflavanon B  $R_1 = R_2 = R_6 = R_8 = H$   $R_3, R_4 = 7-O-C(CH_3)_2CH=CH-8$   $R_5 = OH$   $R_7 = OCH_3$

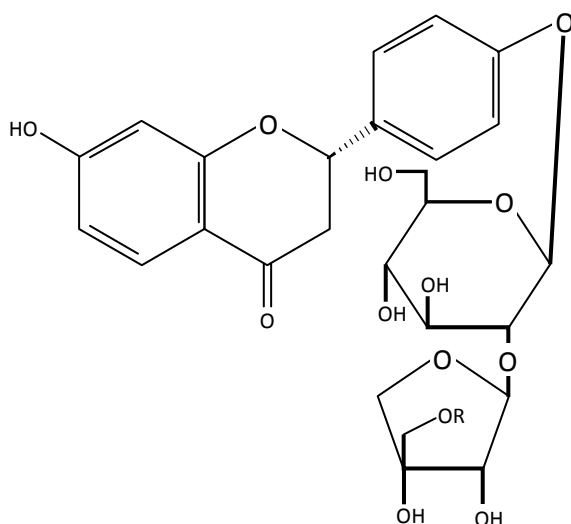
Nedávno byly z *G. uralensis* izolovány flavonoidní glykosidy s feruloylovou nebo kumaroylovou skupinou **64** – **69** a to společně s indolovým konjugátem **70**. Tyto flavonoidní glykosidy lékořice s neobvyklými substituenty znázorňují vzorce **64** – **70**. (1)



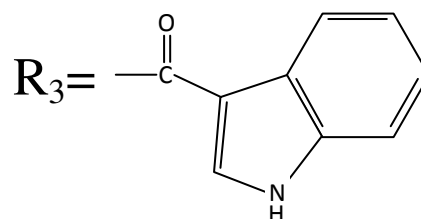
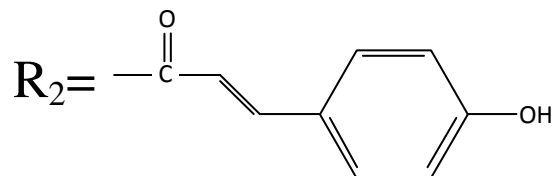
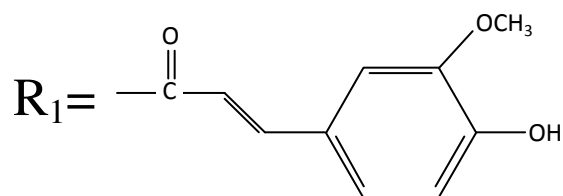
**64** lékořicový glykosid A  $R = R_1$   
**65** lékořicový glykosid B  $R = R_2$



**66** lékořicový glykosid C1  $R = R_1$   
**67** lékořicový glykosid D1  $R = R_2$

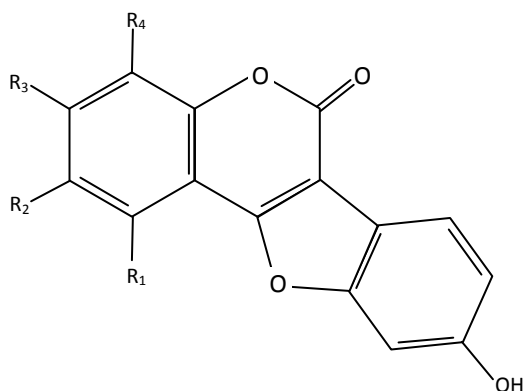


**68** lékořicový glykosid C2  $R = R_1$   
**69** lékořicový glykosid D2  $R = R_2$   
**70** lékořicový glykosid E  $R = R_3$

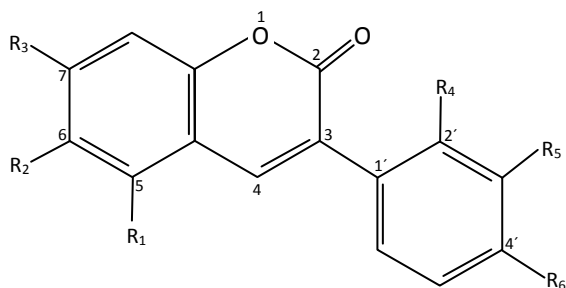


## Kumariny

Z rostlin rodu *Glycyrrhiza* byly získány i další, méně běžné fenolické sloučeniny. Jedná se o 3-aryl-kumariny, kumestany **77 – 81** a benzofurany **82 – 86**. Vzorce **71 – 86** znázorňují fenolické sloučeniny. (1)

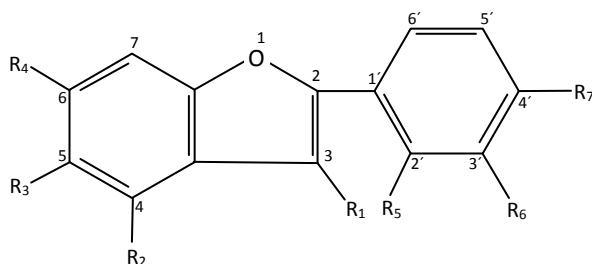


- 77** glycyrol  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   $R_3 = \text{OH}$   $R_4 = \text{H}$   
**78** isoglycyrol  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2, R_3 = -6-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_{32}-\text{O}-7$   $R_4 = \text{H}$   
**79** 3-O-methylglycyrol  $R_1 = R_3 = \text{OCH}_3$   $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   $R_4 = \text{H}$   
**80** neoglycyrol  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2 = \text{H}$   $R_3 = \text{OH}$   $R_4 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   
**81** gancaoin F  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2, R_3 = -6-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2-\text{O}-7$   $R_4 = \text{H}$



- 71** glycykumarin  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   $R_3 = R_4 = R_6 = \text{OH}$   $R_5 = \text{H}$   
**72** glabrokumarin  $R_1 = R_2 = \text{H}$   $R_3 = R_6 = \text{OH}$   $R_4, R_5 = 2'-\text{O}-\text{CCH}_{32}\text{CH}=\text{CH}-3'$   
**73** glycyrin  $R_1 = R_3 = \text{OCH}_3$   $R_4 = R_6 = \text{OH}$   $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   $R_5 = \text{H}$   
**74** inflakumarin A  $R_1 = R_4 = R_5 = \text{H}$   $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_{32}$   $R_3 = R_6 = \text{OH}$   
**75** likopyranokumarin  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2, R_3 = -6-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3\text{CH}_2\text{OH}-\text{O}-7$   $R_4 = R_6 = \text{OH}$   $R_5 = \text{H}$   
**76** likofuranokumarin  $R_1 = \text{OCH}_3$   $R_2, R_3 = -6-\text{CH}_2\text{CH}[\text{C}(\text{CH}_3)_2(\text{OH})]-\text{O}-7$   $R_4 = R_6 = \text{OH}$   $R_5 = \text{H}$





**82** likobenzofuran  $R_1 = \text{OH}$   $R_2 = R_5 = \text{H}$   $R_3 = R_4 = \text{OCH}_3$   $R_6 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_3$   $R_7 = \text{OH}$

**83** likokumaron  $R_1 = \text{H}$   $R_2 = \text{OCH}_3$   $R_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CCH}_3$   $R_4 = R_5 = R_7 = \text{OH}$   $R_6 = \text{H}$

**84** glabrokumaron A  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   $R_4 = R_5 = \text{OH}$   $R_6, R_7 = -3'-\text{CH}=\text{CHCCH}_3-\text{O}-4'$

**85** glabrokumaron B  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   $R_4 = R_7 = \text{OH}$   $R_5, R_6 = -2'-\text{O}-\text{CCH}_3\text{CH}=\text{CH}-3'$

**86** gancain I  $R_1 = \text{H}$   $R_2 = R_4 = \text{OCH}_3$   $R_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$   $R_5 = R_7 = \text{OH}$   $R_6 = \text{H}$

### 3.4.3 Další látky

Lékořice dále obsahuje redukující a neredukující cukry, manitol, škrob, rostlinné gummy, pryskyřice, silici (anethol, estragol, geraniol a alifatické sloučeniny), stopové prvky (organicky vázané železo, mangan, měď, kobalt, dále fosfor, draslík, vápník, hořčík, sodík a zinek), hořčiny (glycyramin), lipidy s fytoestrogenní aktivitou a aminokyseliny. (2, 15, 33, 34)

## 3.5 Účinky

Lékořice je již po staletí používána v léčbě nejrůznějších chorob a to jak ve východní, tak i v západní kultuře. Spolu se svými extrakty vykazuje značné biologické účinky. Tradičně je využívána pro své expektorační, antiulcerózní, antiflogistické, hepatoprotektivní a spazmolytické účinky. Zkoumáním lékořice a jednotlivých obsahových látek byla objevena celá škála dalších účinků, mezi které patří účinky antivirové a antimikrobiální, antioxidační, protinádorové, diuretické, antitrombotické, antialergické, antidiabetické, antidepresivní, neuroprotektivní a jiné. (1, 7, 24)

Droga *Radix liquiritiae* rozpouští hleny a působí expektoračně především díky obsahu glycyrrhizinu a to reflektorickou cestou, zvyšováním sekrece průduškových žláz, drážděním žaludeční sliznice. Usnadňuje odkашlávání rozpouštěním a eliminací bronchiální sekrece. (2, 24)

Pro své protizánětlivé účinky je vhodná v symptomatické léčbě mírného zánětu bez sekundární infekce. Uplatňuje se v léčivých přípravcích pro topickou aplikaci v léčbě kožních

iritací, periodontitidy, zánětu úst a hrdla, atopického ekzému, seborrhea obličeje, slunečních spálenin, „plenkové vyrážky“, bodnutí hmyzem. (24)

Jako fytofarmaceutikum nachází své tradiční užití v léčbě symptomů trávicích potíží (nadýmání, zhoršené trávení, říhání) a kašle; lokálně jako analgetikum ústní dutiny a hltanu. (24)

Pro svou širokou škálu nejrůznějších účinků se lékořice často stává námětem pro celou řadu farmakologických studií. Většina z nich se snaží ověřit účinnost a objasnit mechanismus účinku antiulcerózního, protizánětlivého, hepatoprotektivního, protivirového a protinádorového.

### 3.5.1 Antiulcerózní účinek

Proběhla řada studií, které se zabývaly zkoumáním účinnosti lékořice v léčbě žaludečních a dvanácterníkových vředů. Často bylo použito vysokých dávek, což vedlo k manifestaci řady vedlejších účinků (otoky, vysoký krevní tlak, hypokalémie). Zkoumala se i účinnost extraktu bez glycyrrhizinu, závěry těchto studií se ale výrazně liší. (33)

Předpokládá se, že antiulcerózní účinek lékořice spočívá v inhibici uvolňování gastrinu, což vede ke snížení žaludeční sekrece. (33)

V terapii žaludečních vředů se používá karbenoxolon, syntetický derivát kyseliny glycyrrhetinové. (33)

### 3.5.2 Protizánětlivý účinek

Bylo prokázáno, že glycyrrhizin a jeho aglykon kyselina 18 $\beta$ -glycyrrhetinová inhibují zánětlivé reakce. Částečně je tento účinek způsoben inhibicí fosfolipázy A2, enzymu důležitého pro zánětlivé procesy. V *in vitro* pokuse bylo také demonstrováno, že kyselina glycyrrhizinová inhibuje cyklooxygenázovou aktivitu a tvorbu prostaglandinů (obzvláště prostaglandinu E2), stejně jako nepřímo inhibuje agregaci destiček. Zasahuje tedy do tvorby a funkce faktorů důležitých pro zánětlivou reakci. (29)

Současné studie ukázaly, že glycyrrhizin oslabuje produkci TNF- $\alpha$  a IL-1 $\beta$ , které se významně účastní zánětlivých procesů v těle. Dále bylo pozorováno, že glycyrrhizin zabraňuje infiltraci neutrofilů v zanícené tkáni. (29)

Protizánětlivý účinek kořene *G. inflata* se využívá v léčbě asthma bronchiale. Za účinek odpovídá pravděpodobně likochalkon A. (35)

### 3.5.3 Hepatoprotektivní účinek

Některé obsahové látky lékořice mají významné antioxidační a hepatoprotektivní vlastnosti. Hepatoprotektivní účinek se projeví především snížením hodnot sérových jaterních enzymů. U pacientů se žloutenkou zlepšují stav jaterní tkáně. Konkrétně glycyrhizin snižuje lipidovou peroxidaci v poškozených játrech, způsobenou ischemickou reperfuzí a spolu s glabridinem inhibuje tvorbu kyslíkových radikálů neutrofily. (29)

Na ochraně jater se glycyrhizin podílí ještě mnoha dalšími mechanismy. Např. redukuje expresi indukovatelného enzymu NO-synthasy, což vede k ochraně jaterní tkáně. Jeho intravenózní aplikace pacientům s nechronickou hepatitidou C snižuje hladiny alanin aminotransaminasy (ALT) a aspartat aminotransaminasy (AST) v plazmě a redukuje progresi jaterní fibrózy stejně jako pozdější vznik hepatocelulárního karcinomu. (36)

Nedávno bylo zjištěno, že glycyrhizin je schopen zastavit poškození jater u myší, navozené lipopolysacharidy a to inhibicí interleukinu-18 u myší. U krys vedla aplikace glycyrhizinu vedle inhibice poškození jater i k indukci proliferace hepatocytů a k regeneraci jater po 70% jaterní hepatektomii. (36)

Silné hepatoprotektivní účinky byly zjištěny i v pokusu s krysami intoxikovanými kadmíem. (37)

### 3.5.4 Protivirový účinek

Glycyrhizin chrání buňky proti infekci mnoha viry. Společně inhibují růst a cytopatologii řady RNA a DNA virů. Jedná se o viry hepatitidy A a C, viry Herpes zoster a Herpes simplex, virus HIV, cytomegaloviry a viry chřipky typu A.

Užívání glycyrhizinu vede ke zřetelnému snížení počtu lidských plicních buněk, nakažených virem chřipky typu A. Avšak antivirový účinek je omezen pouze na jeden nebo dva replikační cykly viru, především na časnou fázi cyklu. Glycyrhizin interaguje s buněčnou membránou, což má s největší pravděpodobností za následek snížení endocytózy a proto menší uptake viru do buňky. (38)

### 3.5.5 Protinádorový účinek

V tradiční čínské medicíně je lékořice běžně užívána v léčbě nádorových onemocnění.

Některé obsahové látky kořene lékořice jsou schopny vyvolat apoptózu anebo zastavení buněčného cyklu rakovinných buněk. Konkrétně likochalkon A z *G. glabra* podporuje apoptózu nádorových buněk prostaty. (39)

Užití lékořice právě v léčbě rakoviny prostaty je podpořeno i jejími antiandrogenními vlastnostmi. Snižování hladiny testosteronu v séru zabrání vzniku abnormální hladiny androgenů, která způsobuje mnoho chorob jako např. benigní hyperplazii prostaty. (40)

Glycyrhizin a glycyrhetin jsou bezesporu jedny z nejdůležitějších látek, které se podílejí na řadě farmakologických účinků lékořice. Vedle těchto saponinů hrají v biologické aktivitě lékořice důležitou roli také flavonoidy, jako jsou liquiritigenin, liquiritin, isoliquiritigenin a isoliquiritin, ale také glabridin, glabren, likochalkon A, likochalkon B a glycykumarin. (1)

Liquiritin má estrogení účinky, liquiritin apiosid, liquiritigenin a liquiritin působí antitusicky a isoliquiritin inhibuje enzym aldoseduktasu a angiogenesi granulomů, glabridin se užívá v kosmetických přípravcích k bělení kůže. (3, 18)

Inhibicí aldoseduktasy se docílí zpomalení rozvoje chronických komplikací u pacientů s diabetes mellitus. Za normálních okolností konvertuje nitrobuněčný enzym aldoseduktasa glukózu na sorbitol. Sorbitol je vysoce osmoticky aktivní látka, způsobující nasávání vody do buňky a její následný zánik. Mezi buňky schopné hromadit sorbitol patří buňky centrální nervové soustavy a buňky oční čočky. (41)

### 3.6 Další využití lékořice

Kořeny lékořice jsou důležitým komerčním produktem. Extrakt z lékořice se používá ve farmacii, v kosmetice, v cukrářství, jako přísada do jídla a jako tabáková vůně. (3)

Droga je součástí karminativních, diuretických a průduškových čajových směsí. Tvoří složku mnohých léčivých přípravků. Jedná se o rostlinné léčivé prostředky při kašli, zácpě, při onemocnění gastrointestinálního traktu a žlučníku, používá se jako korigens chuti a pomocná látka. (7)

V Asii je známá jako surovina tradiční japonské *Kampo* medicíny, nebo jako čínská Gan-Cao (sladká tráva). (1, 42)

Nadzemní části se dají použít jako krmivo pro dobytek. (2)

V potravinářském průmyslu se lékořice používá jako sladidlo, pro zvýraznění chuti a vytvoření pěny řady nápojů. (33)

Velké množství extraktu lékořice se zpracovává v tabákovém průmyslu (až 90% lékořice dovážené do USA). Lékořice dodává tabáku jak sladkou chuť, tak i aroma, které tabák zjemňuje. Mimo jiné zabraňuje vysychání tabáku. (3)

### 3.7 Nežádoucí účinky

I přesto, že se obecně lékořice považuje za bezpečnou, může nadměrná konzumace vyvolat příznaky zvýšené funkce kůry nadledvin. Podle lékopisu je jednotlivá terapeutická dávka pro dospělé 1,5g drogy, denní dávka 5,0-20,0g, což odpovídá 200-800mg kyseliny glycyrrhetinové. Maximální doba užívání je maximálně 4-6 týdnů.

Pseudoaldosteronový syndrom (pseudohyperaldosteronismus) způsobuje glycyrrhizin a jeho metabolity, které inhibují jaterní metabolismus aldosteronu a tlumí funkci 11- $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenasy, která převádí kortizol na kortizon. (43)

Stav podobný vzestupu mineralkortikoidů se může projevovat řadou symptomů, mezi které patří: celková únava, ztráta citu v rukách, slabost dolních končetin, otoky, zvýšená exkrece draslíku močí, hypokalémie, která může vést až k rhabdomyolýze, dále myoglobinurie, myopathie, metabolická alkalóza, abnormality na EKG, hypertenze, srdeční potíže, hyperglykémie, časté močení, potlačené množství aktivního reninu v plazmě, snížená hladina aldosteronu a zvýšená hladina kortizolu v moči. (32, 42, 44)

Potíže navozené většinou nadměrným užíváním drogy (uvádí se více než 50g drogy denně během delší doby) ustoupí za několik dní po vysazení drogy. (43)

Na druhé straně by inhibice enzymu 11- $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenasy typu 1, který katalyzuje aktivaci glukokortikoidů, mohla zlepšit metabolický syndrom (konkrétně viscerální obezitu, dyslipidémii a inzulinorezistenci). (45)

Vysoké riziko nežádoucích účinků je u konzumentů nápojů založených na lékořicovém koncentrátu (ohrožení jsou především diabetici, atleti, někteří pacienti v protialkoholické léčbě) a u milovníků sladkostí z lékořice. Hypertenze a renální insuficience zvyšují riziko intoxikace. (24)

Lékořice ovlivňuje celou řadu fyziologických procesů. Tento zásah do organismu může vyústit v požadovaný účinek, v nežádoucí účinek, ale také v interakci se souběžně užívaným léčivem.

### 3.8 Interakce

Užívání drogy anebo jejich účinných látek může interagovat s existující léčbou pacienta.

Extrakt z lékořice a glycyrrhizin významně zvyšují glukuronidaci analgetika acetaminofenu, čímž dojde k ovlivnění metabolismu a vylučování paracetamolu. (43)

Vedle toho odvar z lékořice a glycyrrhizin významně zvyšují plazmatické koncentrace methotrexatu. (46)

Mohou se také zvýšit ztráty draslíku způsobené užíváním léčiv např. ze skupiny thiazidových diuretik. Drogou způsobená hypokalémie zvyšuje riziko léčby náprstníkovými glykosidy. (43)

Pokud je pacient léčen kortikoidy, tak by se měl užívání lékořice vyhýbat. (24)

Přítomnost kořene lékořice v projímavé čajové směsi vede k potencování účinku přítomných antrachinonů. (43)

### **3.9 Kontraindikace**

Užívání drogy může vést k zadržování sodíku a vody v organismu a způsobit zvýšené ztráty draslíku. Lékořice by proto neměla být užívána pacienty s hypertenzí, pokud tak není předepsáno lékařem. (24)

Mezi další kontraindikace patří jaterní onemocnění (hepatitida, cirhóza), nedostatek draslíku v krvi a těžká ledvinová nedostatečnost. Droga není teratogenní, mutagenní, kancerogenní, při správném užívání by se neměly objevit žádné vedlejší účinky. Délka léčby by neměla přesáhnout 4 - 6 týdnů. Během terapie je doporučená strava bohatá na draslík (banány, sušené meruňky). (7, 24, 43)

## 4 Praktická část

### 4.1 Materiál

Podzemní orgány z *G. pallidiflora*, *G. echinata*, *G. uralensis* byly získány z rostlin pěstovaných v Lednici na pozemku Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity. Sklizeň proběhla 30. 8. 2007. Z druhů *G. pallidiflora* a *G. uralensis* byly k dispozici dva vzorky, z druhu *G. echinata* jeden vzorek.

### 4.2 Přístroje a pomůcky

- Digitální fotoaparát Olympus Camedia C4040
- Mikroskop Olympus model BX41, okulár 10x/22, objektivy: Plan 4x/0,10, 10x/0,25, 20x/0,40, 40x/0,65
- Mikrotom sáňkový FOM-Gyem, typ OE 908/1
- Mikrovlnná trouba Elektrolux
- Mikroskopická skla podložní 76x26mm
- Skla krycí 18x22mm
- Speciální pinzeta pro manipulaci s krycími sklíčky
- Termostat Binder, Německo
- Vaničky na barvení preparátů

### 4.3 Chemikálie

- n-Butylalkohol p.a., Lachema (ČR)
- Ethanol 96% p.a. (dále ředěný na 60%, 70% a 80%), Lachema ČR
- Chloralhydrát Ph.Eur., Riedel de Haën (Německo)
- Histofluid, Marienfeld, Německo
- Parafín, Lachema (ČR)
- Safranin, BDH Chemicals Ltd, Anglie
  - Barvicí roztok safraninu:
    - Safranin 3,0g
    - Octan sodný 4,0g
    - Etanol 96% 100ml

- Formaldehyd 40% 8,0g
- Hematoxylín promicro, Lachema (ČR)
  - Ehrlichův kamencový Hematoxylín
    - Hematoxylín 1,0g
    - Etanol 100% 50ml
    - Ledová kyselina octová 5ml
    - Glycerol 50ml
    - Nasycený roztok síranu hlinito-draselného 50ml
    - Jodičnan sodný 0,1g
- Xylen p.a., Lachema (ČR)

#### 4.4 Příprava mikroskopických preparátů

K vytvoření představy o zastoupení charakteristických znaků v jednotlivých rostlinách byly vytvořeny nativní preparáty práškovaných drog.

0,1g práškované drogy (355) se v roztoku chloralhydrátu (ČL) zahřívalo 30 minut na vodní lázni. Po ochlazení se z projasněné drogy připravil preparát a pozorovala se pod mikroskopem. (19)

Pro studium anatomické stavby byly připraveny řezy. (22)

##### Úprava drogy k přípravě řezů

Kousky drogy byly macerovány v 10% formaldehydu a uchovány až do doby zpracování pro trvalé preparáty.

##### Odvodnění objektů a projasnění

Po změkčení byla droga 1 hodinu ponechána v 60% etanolu, poté se přenesla na 1 hodinu do 70% etanolu, následovala lázeň se směsí 70% butanolu a 20% etanolu, ve které zůstala také 1 hodinu. Odvodňování pokračovalo půl hodiny ve směsi 85% butanolu a 15% etanolu. Z této lázně objekt putoval do 100% butanolu, ve kterém zůstal 1 hodinu. Odvodnění se dokončilo přendáním objektu opět do 100% butanolu, ve kterém setrval 24 hodin.

##### Zalévání do parafínu

Takto upravený objekt bylo třeba pomalu prosytit parafínem. Objekt byl vložen do nasyceného roztoku parafínu v butanolu a ponechán prosytit v termostatu při teplotě 50°C po tři dny. Objekt byl zalit do bločku parafínu v papírové krabici a ponechán volně na vzduchu ke ztuhnutí.



Po týdnu byl odstraněn přebytečný parafín a bloček byl přitaven na dřevěný špalíček umožňující upnutí do svorek mikrotomu.

Řezání probíhalo na sáňkovém mikrotomu. Jednotlivé řezy z bločku o tloušťce 8-20μm se žehlily ve vodě asi 40°C teplé, pak byly umístěny na podložní sklíčko, které bylo předem potřené směsí vaječného bílku a glycerínu v poměru 1:1 a protažené plamenem.

Řezy byly umístěny do termostatu a ponechány při 37°C.

### Barvení

Řezy se zbavily parafínu a etanolovou sestupnou řadou byly převedeny do vody.

### Postup barvení safraninem

Objekt byl převeden do 70% etanolu. Na řez umístěný na podložním sklíčku byl kapátkem přidán barvicí roztok safraninu a zahříváno 15 minut na nejnižším stupni v mikrovlnné troubě. Po vyndání z mikrovlnné trouby byl objekt opláchnut destilovanou vodou. Obarvený vzorek byl umístěn na 5 minut do 60% etanolu, poté na 5 minut do 70% etanolu, následně 10 minut do 80% etanolu, 10 minut do 90% etanolu a tzv. diferenciací byla ukončena přendáním objektu na 10 minut do lázně 96% etanolu a kyseliny pikrové. Objekt byl opláchnut 96% etanolem se stopou amoniaku a v čistém 96% etanolu ponechán do druhého dne.

### Postup barvení Ehrlichovým kamencovým haematoxylinem

Objekty byly umístěny do 30% etanolu. Barvily se cca 1 minutu v haematoxylinu. Obarvený preparát byl opláchnut vodou a postupně vyprán v zalkalizovaném 70%, 80% etanolu a to po dobu 5 minut, pak 10 minut v 90% etanolu. V 96% etanolu byl objekt ponechán až do druhého dne.

### Uzavírání preparátů

Řezy drogy byly uzavřeny do media Histofluid. Obarvené a odvodněné řezy byly prosyceny xylenem. Objekt byl postupně přenášen z xylenu I, do xylenu II a následně do xylenu III.

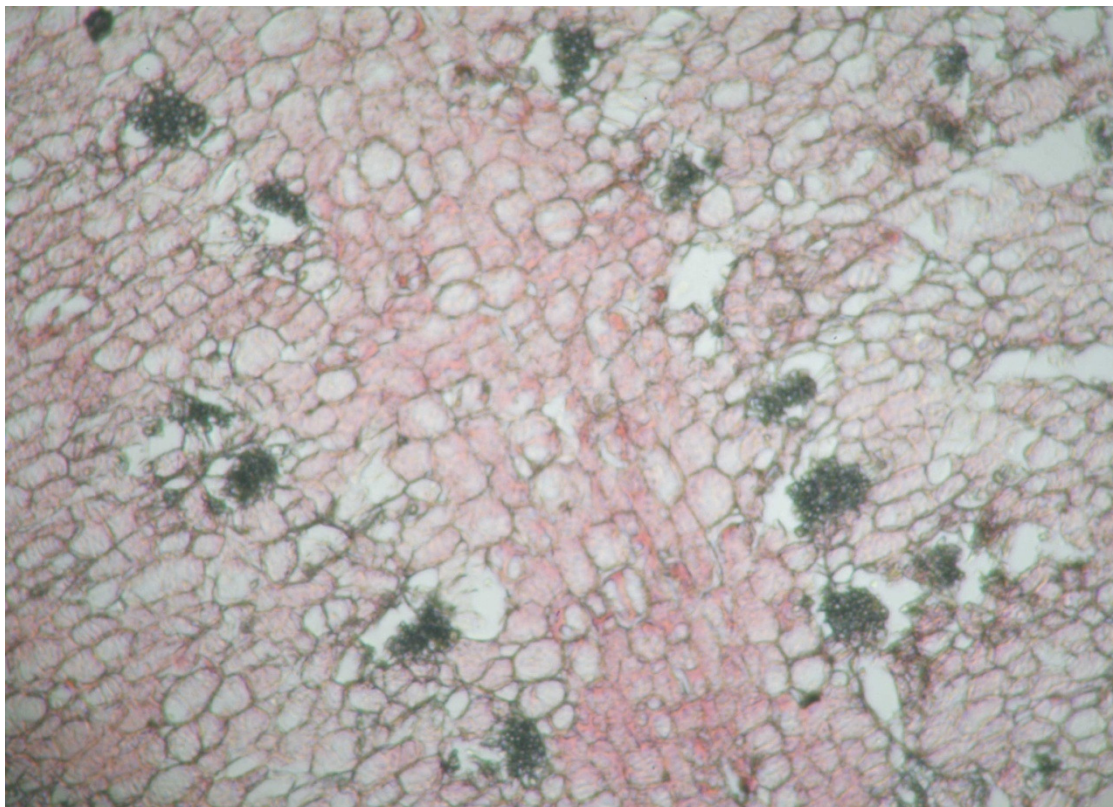
Na odvodněný a projasněný řez na podložním sklíčku byla kápnuta kapka uzavíracího média a řez byl přiklopen krycím sklíčkem. Takto zhotovené preparáty byly ponechány několik týdnů v termostatu při 37°C.

## 5 Výsledky

### 5.1 Vyhodnocování mikroskopických preparátů

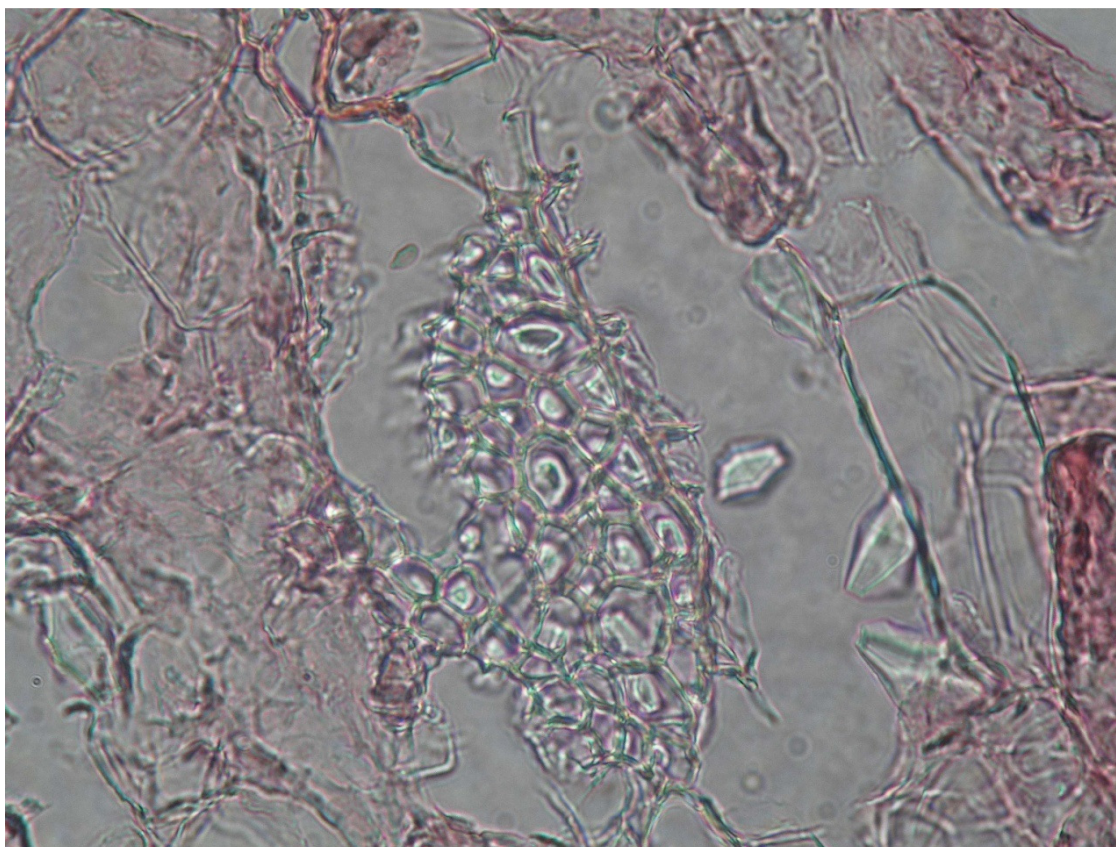
#### *Glycyrrhiza pallidiflora* – kořen

U druhu *G. pallidiflora* (obr. 5-13) je povrch krytý několikavrstevným korkem. Kůra je široká, tvoří ji parenchymatické pletivo s velkým množstvím škrobu, krystaly šťavelanu vápenatého a skupinami lýkových vláken (obr. 5). Stěny vláken jsou silně ztlustělé, takže lumen téměř mizí. Skupiny lýkových vláken, široké  $114,61 \pm 34,91 \mu\text{m}$  x  $76,82 \pm 25,24 \mu\text{m}$ , jsou obklopené komůrkovými vlákny. (obr. 6, 7) Mezi nimi lze pozorovat pruhy dobře viditelného keratenchymu (obr. 8). Krystaly jsou  $26,57 \pm 10,11 \mu\text{m}$  dlouhé a  $15,60 \pm 5,45 \mu\text{m}$  široké. V sekundární kůře jsou dobře viditelné skupiny sítkovic. Dřevo je přibližně stejně široké jako kůra. Dřeňové paprsky jsou široké, většinou pěti až devítiřadé (obr. 9). Cévy jsou velké, tečkované, většinou kulaté, vyskytují se jak jednotlivě, tak i ve skupinách a to nejčastěji po dvou nebo třech cévách. Cévy jsou široké  $80,78 \pm 30,36 \mu\text{m}$  x  $60,94 \pm 24,43 \mu\text{m}$  a jsou doprovázeny cévicemi (obr. 10). Stěna cévy je silná  $6,3 \pm 0,8 \mu\text{m}$ . V okolí jsou velké skupiny vláken libriformu obklopené krystaly šťavelanu vápenatého. Podél dřeňových paprsků jsou výrazné, protáhlé dutinky (obr. 11).

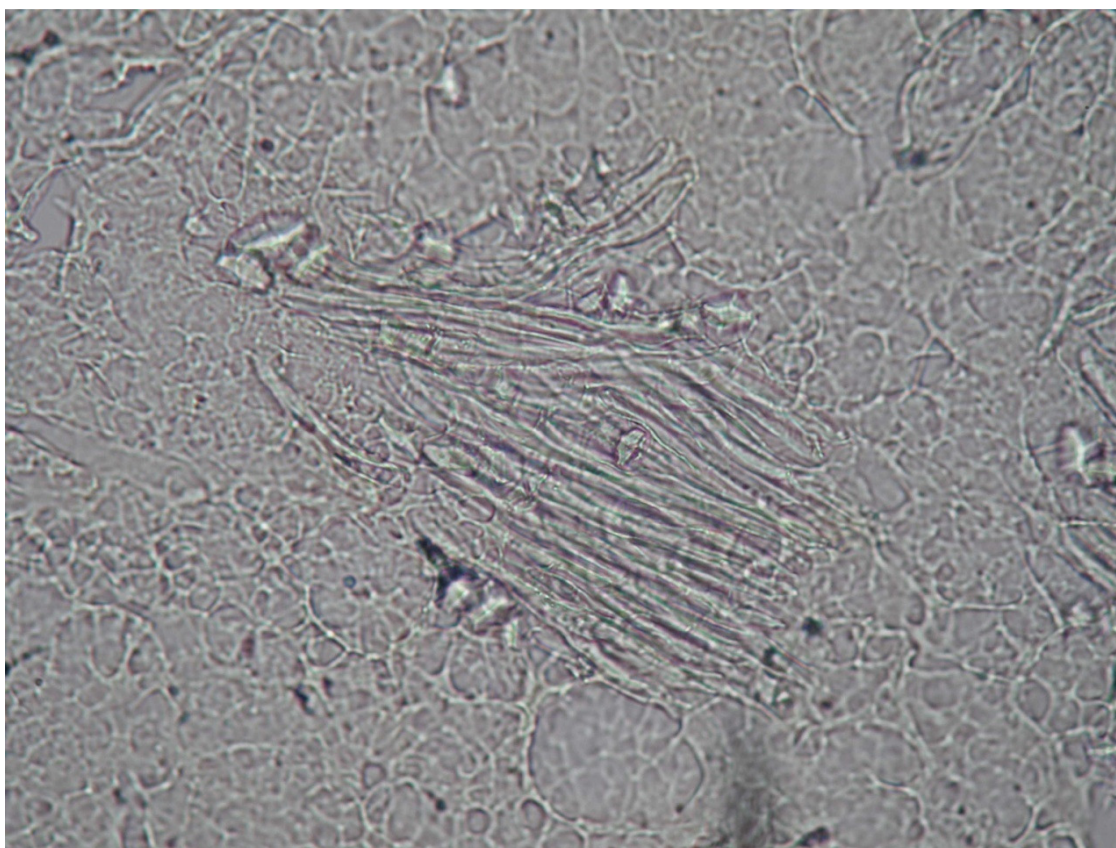


Obrázek 5 *G. pallidiflora* skupiny lýkových vláken v kůře



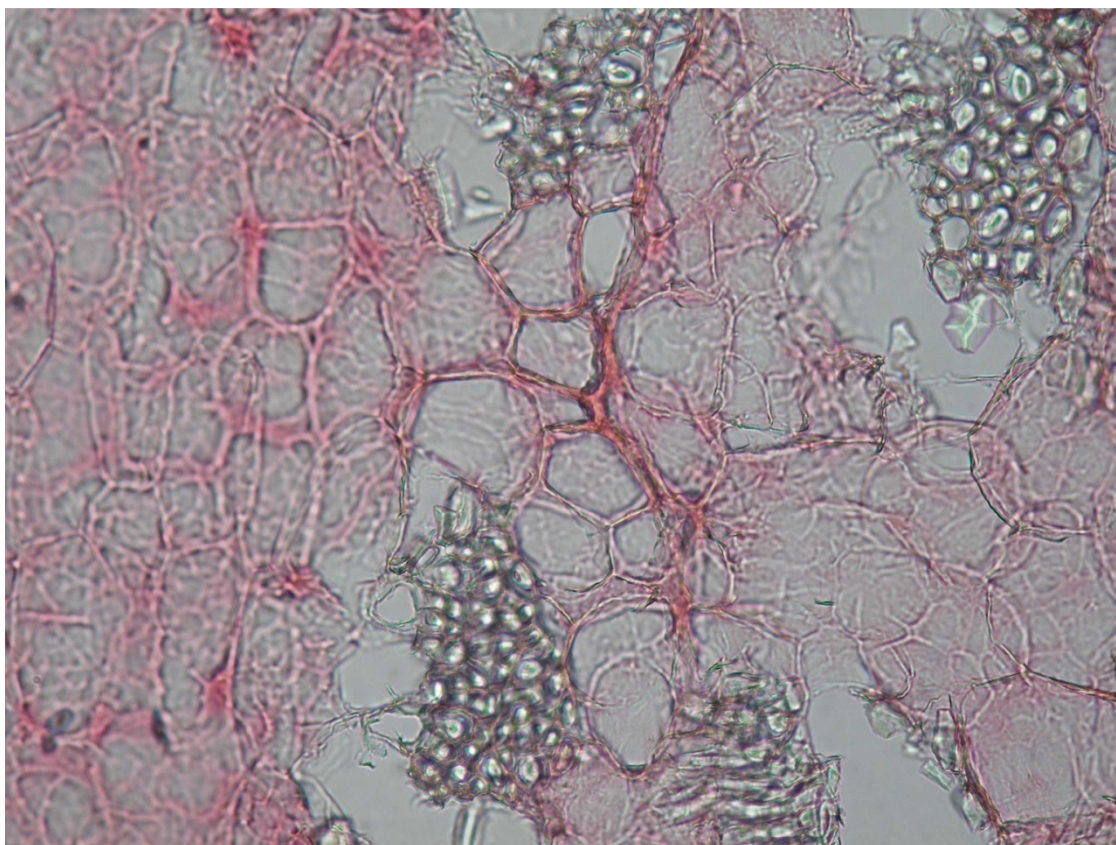


Obrázek 6 *G. pallidiflora* skupina lúkóvých vláken v kůře

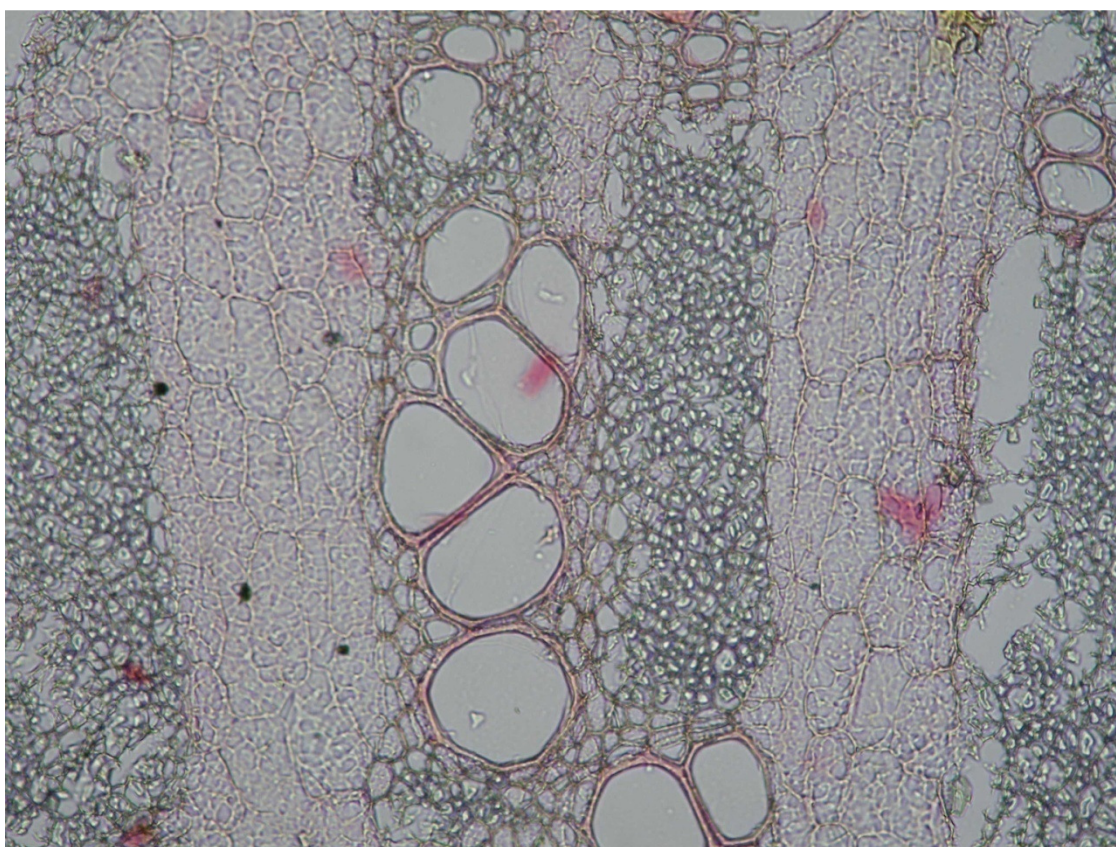


Obrázek 7 *G. pallidiflora* skupina lúkóvých vláken v kůře



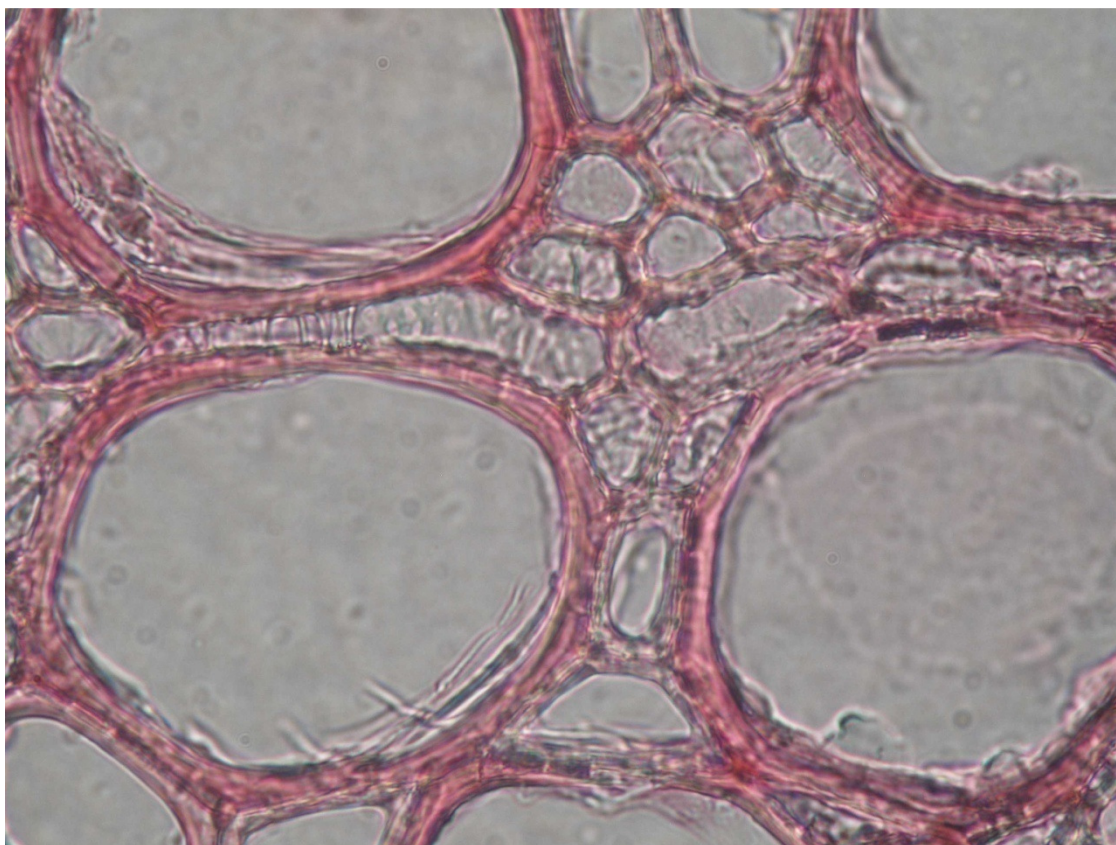


Obrázek 8 *G. pallidiflora* skupiny lýkových vláken s keratenchymem v kůře

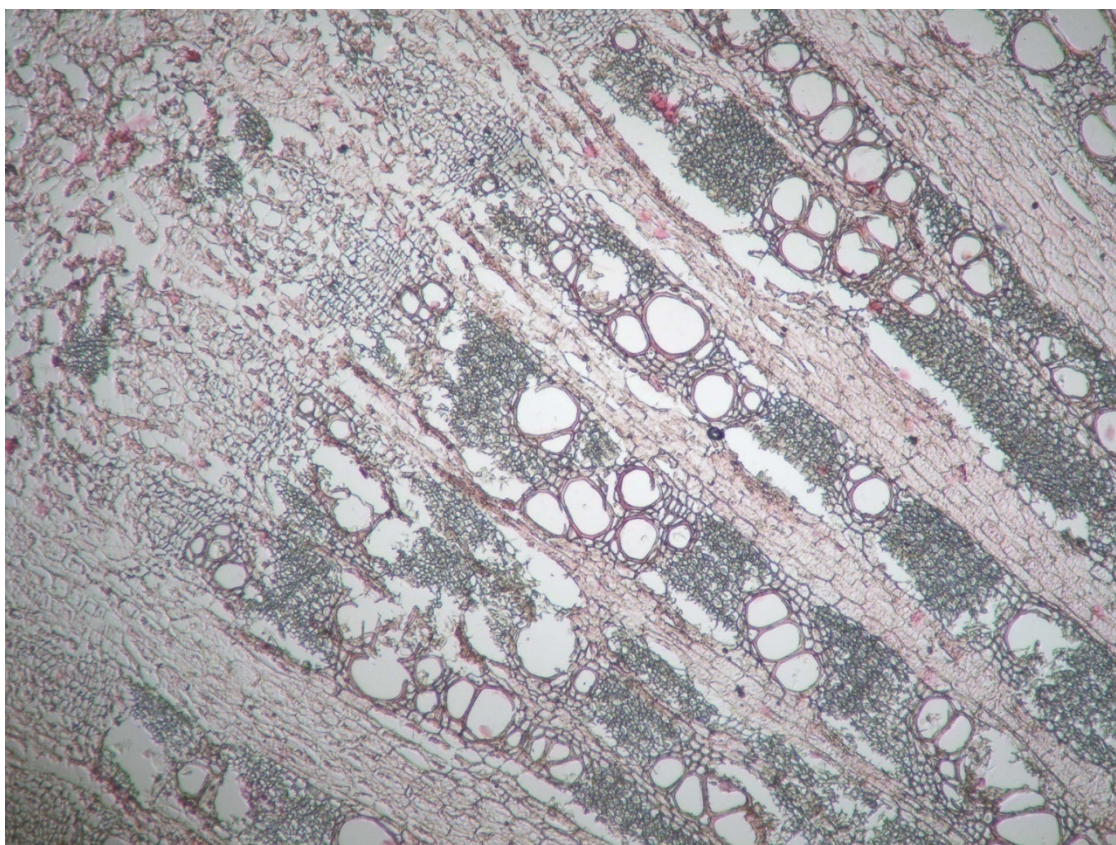


Obrázek 9 *G. pallidiflora* dřevo





Obrázek 10 *G. pallidiflora* cévy

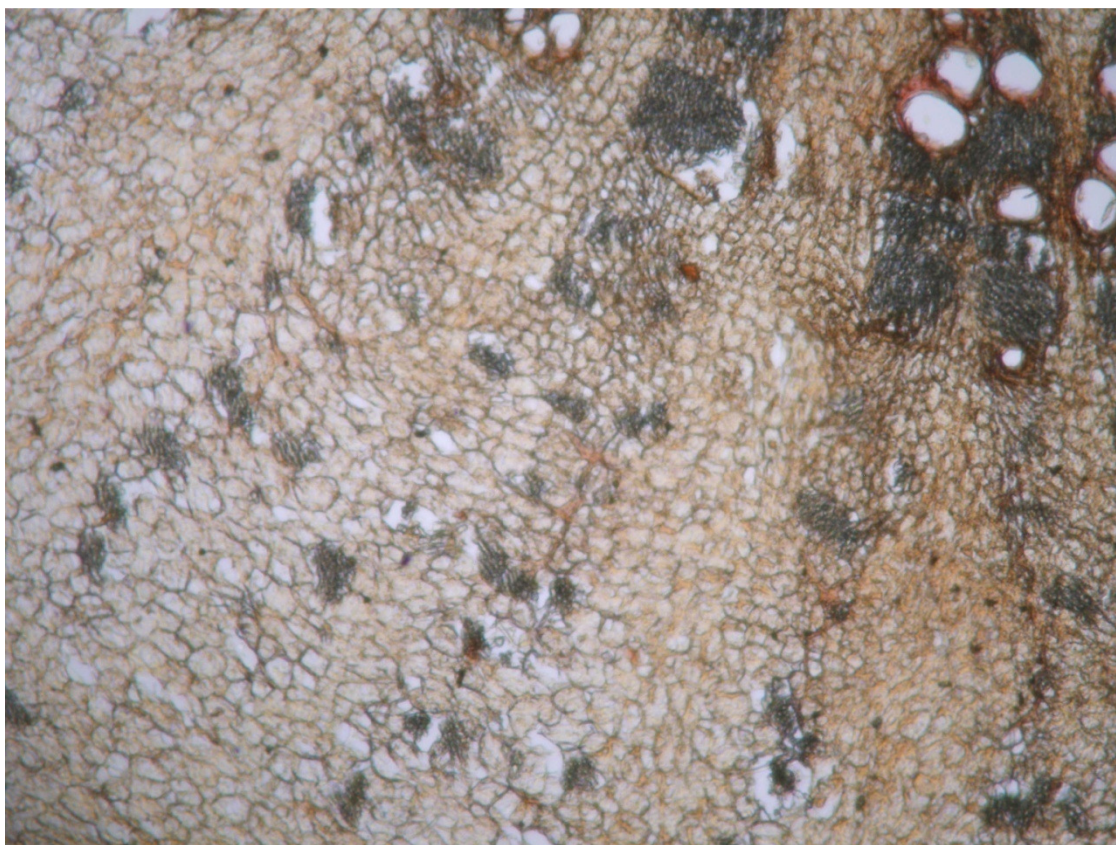


Obrázek 11 *G. pallidiflora* příčný řez kořene

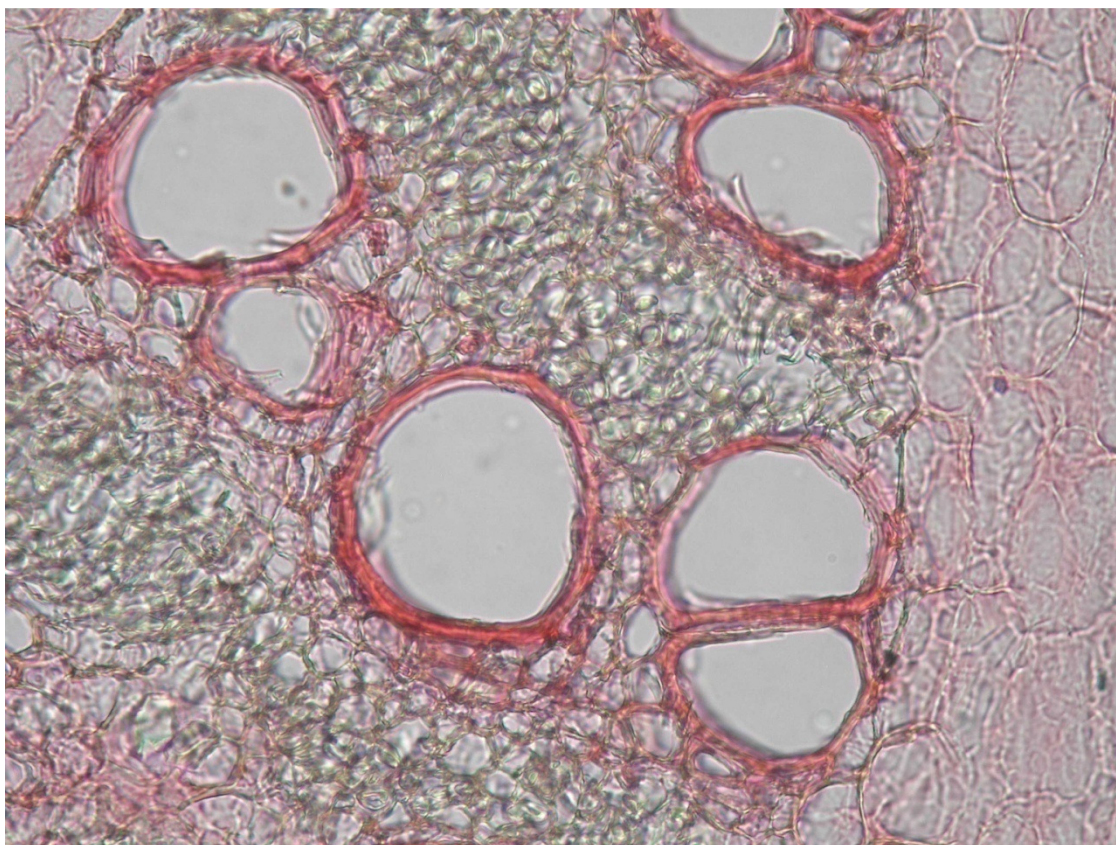


*Glycyrrhiza pallidiflora* – stolon

Na povrchu je víceřadý korek. Kůra je široká, tvořena parenchymatickými buňkami se škrobem. V kůře jsou malé, zato četné skupiny lýkových vláken, obklopené komůrkovými vlákny s krystaly šťavelanu vápenatého (obr. 12). Krystaly šťavelanu vápenatého dlouhé  $23,75 \pm 11,90 \mu\text{m}$  a široké  $13,76 \pm 4,97 \mu\text{m}$ , svým tvarem připomínají lichoběžník. Skupiny lýkových vláken jsou široké  $93,52 \pm 28,37 \mu\text{m}$  x  $64,55 \pm 17,15 \mu\text{m}$ . Sklerenchymatická vlákna s tlustou stěnou a malým lumenem mají průměr  $7,24 \pm 2,54 \mu\text{m}$ . Keratenchym je zřetelný. Ve dřevě jsou téměř kulaté, tečkované cévy umístěny jednotlivě nebo ve skupinách po dvou nebo po třech. Jsou široké  $74 \pm 32,33 \mu\text{m}$  x  $59,72 \pm 27,48 \mu\text{m}$  a doprovází je cévice a velké skupiny libriformu (obr. 13). Kolem libriformu jsou krystaly šťavelanu vápenatého. Dřevem probíhají široké dřevové paprsky o pěti až devíti řadách, které přecházejí již jako značně široké do sekundární kůry. Podél dřevových paprsků se místy nacházejí protáhlé dutinky. Uprostřed je dřev z parenchymatických buněk.



Obrázek 12 *G. pallidiflora* příčný řez kořene

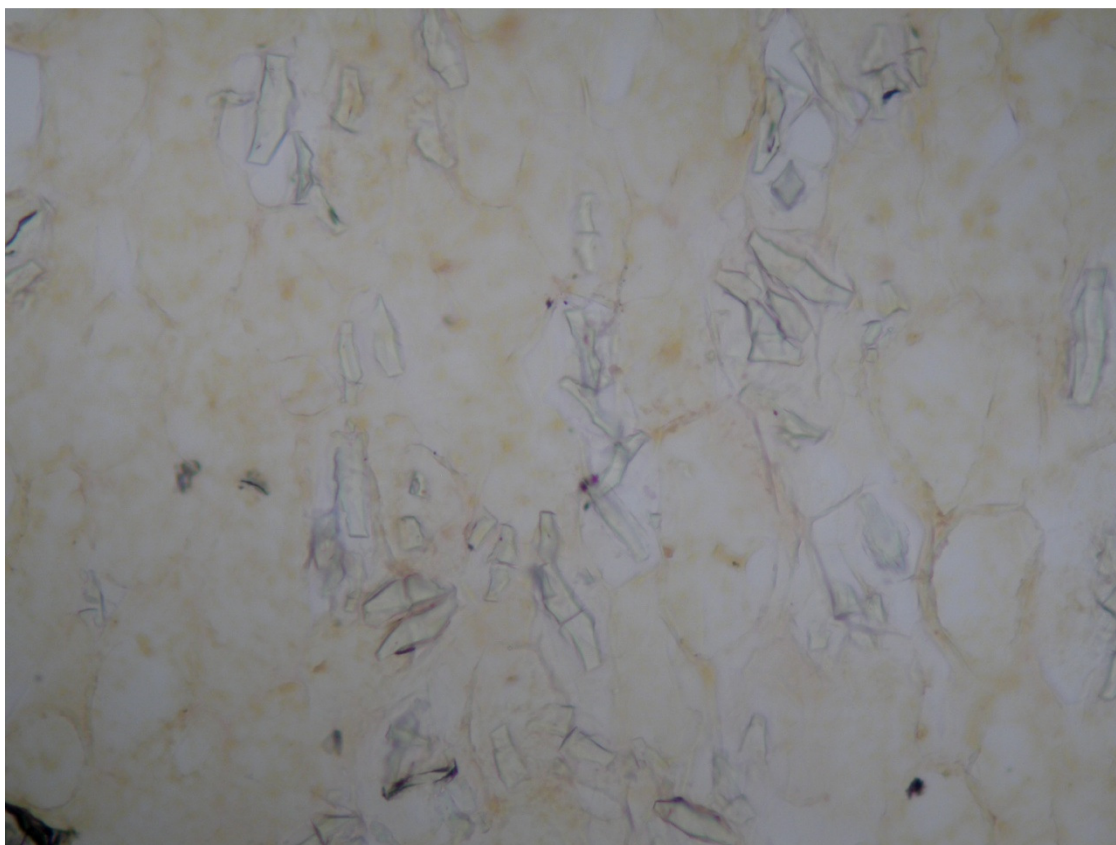


Obrázek 13 *G. pallidiflora* cévy

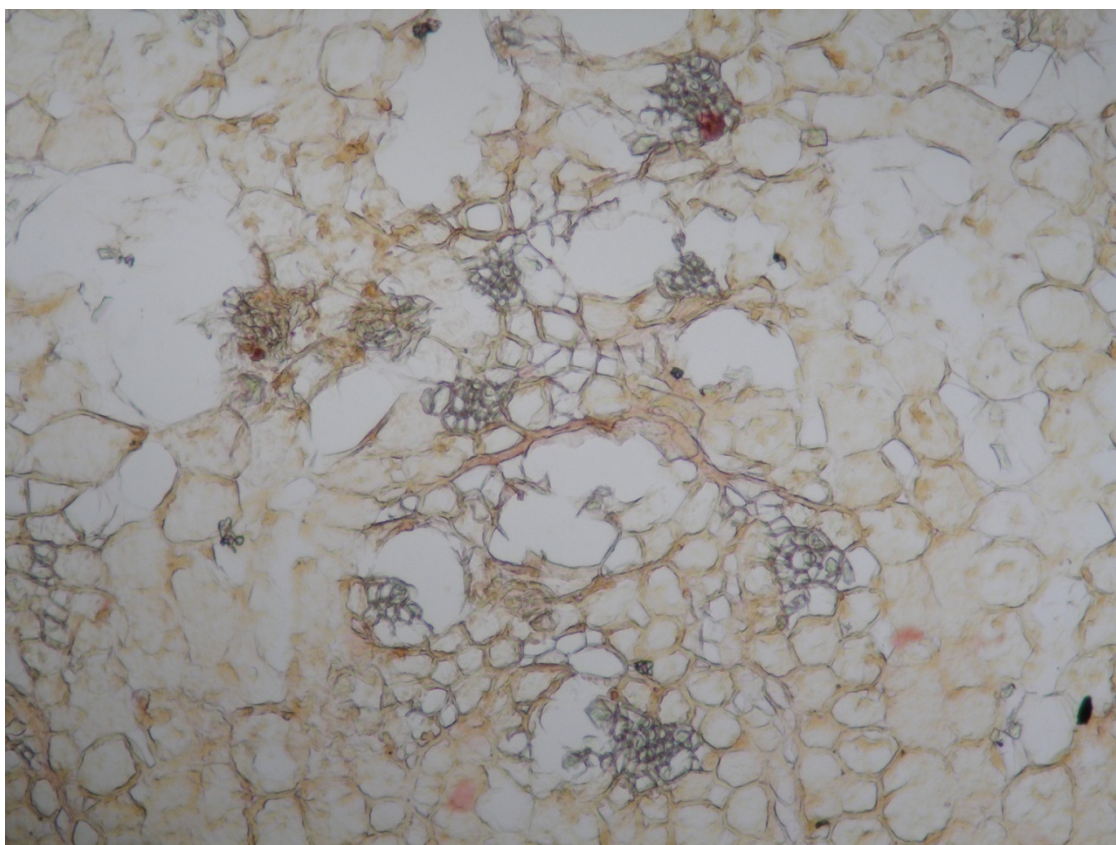
#### *Glycyrrhiza echinata* – kořen

Na povrchu kořene druhu *G. echinata* je víceřadý korek. Kůra je úzká, dvakrát užší než dřevo. Parenchym obsahuje škrobová zrna a velké množství krystalů šťavelanu vápenatého. Krystaly, nejčastěji tvaru lichoběžníku nebo obdélníku, bývají často ve dvojici, v polovině jakoby přelomené (obr. 14). Na délku mají  $24,43 \pm 10,23 \mu\text{m}$  a na šířku  $11,31 \pm 3,76 \mu\text{m}$ . Skupiny lýkových vláken jsou velmi drobné, široké  $63,97 \pm 21,54 \mu\text{m}$  x  $45,85 \pm 14,22 \mu\text{m}$  a jsou obklopené komůrkovými vlákny (obr. 15). Sklerenchymatická vlákna mají průměr  $9,03 \pm 9,47 \mu\text{m}$ . Keratenchym je dobře zřetelný (obr. 15). V sekundární kůře jsou viditelné sítkovice. Ve dřevě jsou úzké dřevové paprsky, tří až pětiřadé, směrem ke kůře se rozšiřují. Cévy jsou kruhovitě, tečkované, na vnějším průměru široké  $89,78 \pm 33,01 \mu\text{m}$  x  $72,56 \pm 25,68 \mu\text{m}$ , stěna je silná  $6 \pm 0,8 \mu\text{m}$ . Vyskytují se většinou jednotlivě, občas ve skupinách po dvou nebo po třech. Jsou obklopeny cévicemi a libriformem. Ve dřevě chybí protáhlé dutinky (obr. 16).



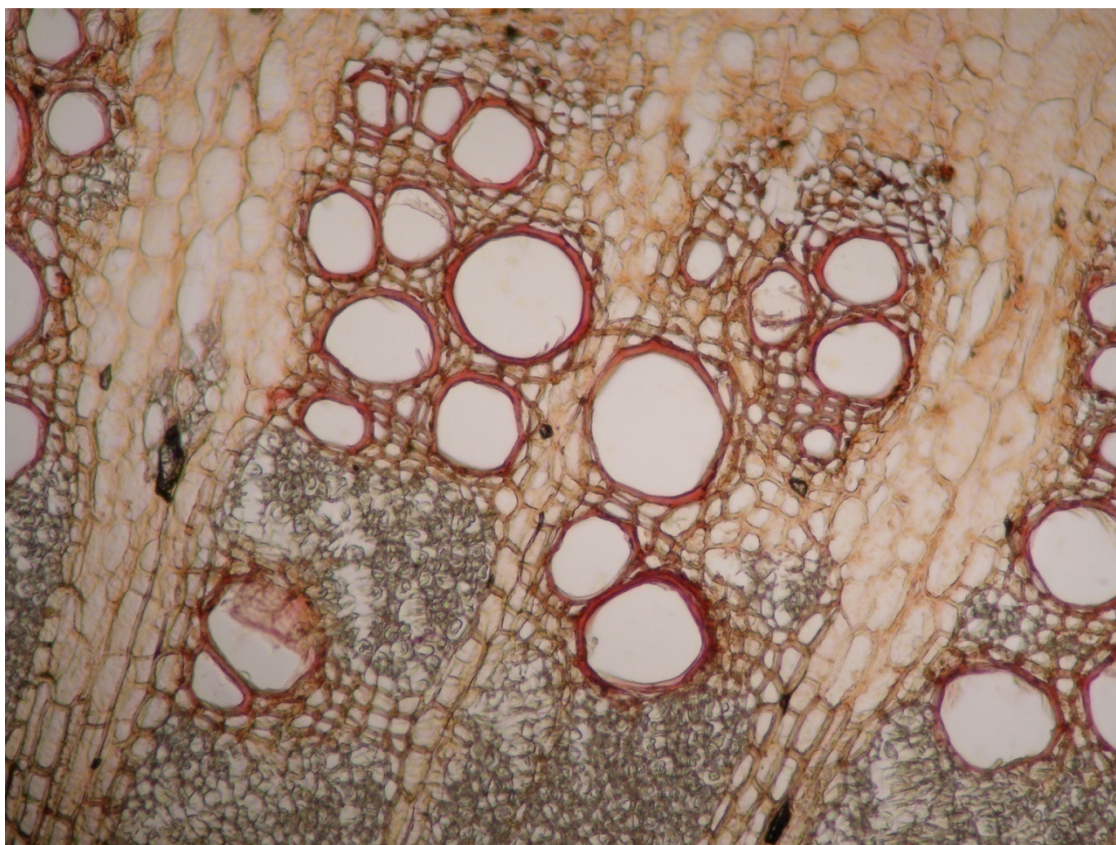


Obrázek 14 *G. echinata* krystaly šťavelanu vápenatého v kůře



Obrázek 15 *G. echinata* skupiny sklerenchymatických vláken s keratenchymem v kůře



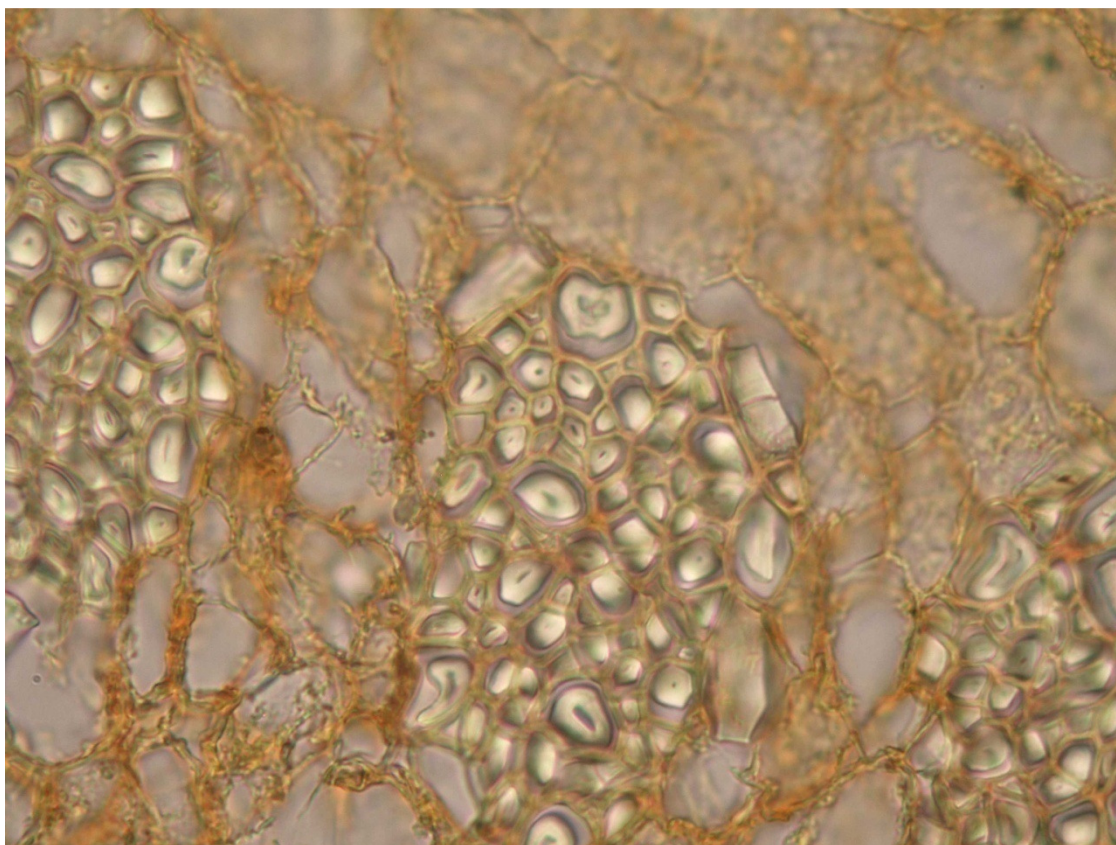


Obrázek 16 *G. echinata* dřevo

#### *Glycyrrhiza uralensis* – stolon

Úzká kůra je krytá víceřadým korkem. V parenchymatických buňkách je značné množství škrobu. V sekundární kůře je dobře viditelný keratenchym, na jehož koncích jsou skupiny lýkových vláken, obklopené komůrkovými vlákny (obr. 17). Skupiny lýkových vláken jsou odděleny širokými dřevnými paprsky a na řezu jsou uspořádány do tvaru pyramidy (obr. 18). Skupiny lýkových vláken jsou široké  $98,36 \pm 42,26 \mu\text{m}$  x  $58,27 \pm 12,25 \mu\text{m}$ . Sklerenchymatická vlákna mají tlusté stěny a úzké lumen a mají průměr  $9,75 \pm 7,24 \mu\text{m}$ . Krystaly šťavelanu vápenatého mají nejčastěji tvar lichoběžníku a jsou  $21,51 \pm 9,18 \mu\text{m}$  dlouhé a  $12,34 \pm 3,69 \mu\text{m}$  široké (obr. 19). Na rozhraní kůry a dřeva je zřetelné kambium. Ve dřevě, které je zhruba dvakrát širší než kůra, jsou široké dřevné paprsky, tří až sedmiřadé. Cévy jsou kruhové, samostatně, místy ve skupinách po dvou nebo po třech. Jsou tečkované, na vnějším průměru široké  $70,94 \pm 15,95 \mu\text{m}$  x  $56,94 \pm 16,89 \mu\text{m}$ , obklopené cévicemi a libriformem (obr. 20). Stěna cévy je silná  $2,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$ . Kolem libriformu jsou krystaly šťavelanu vápenatého. Podél dřevných paprsků se táhnou protáhlé dutinky. Ve středu je dřev tvořená parenchymatickými buňkami (obr. 21)





Obrázek 17 *G. uralensis* skupina lýkových vláken v kůře

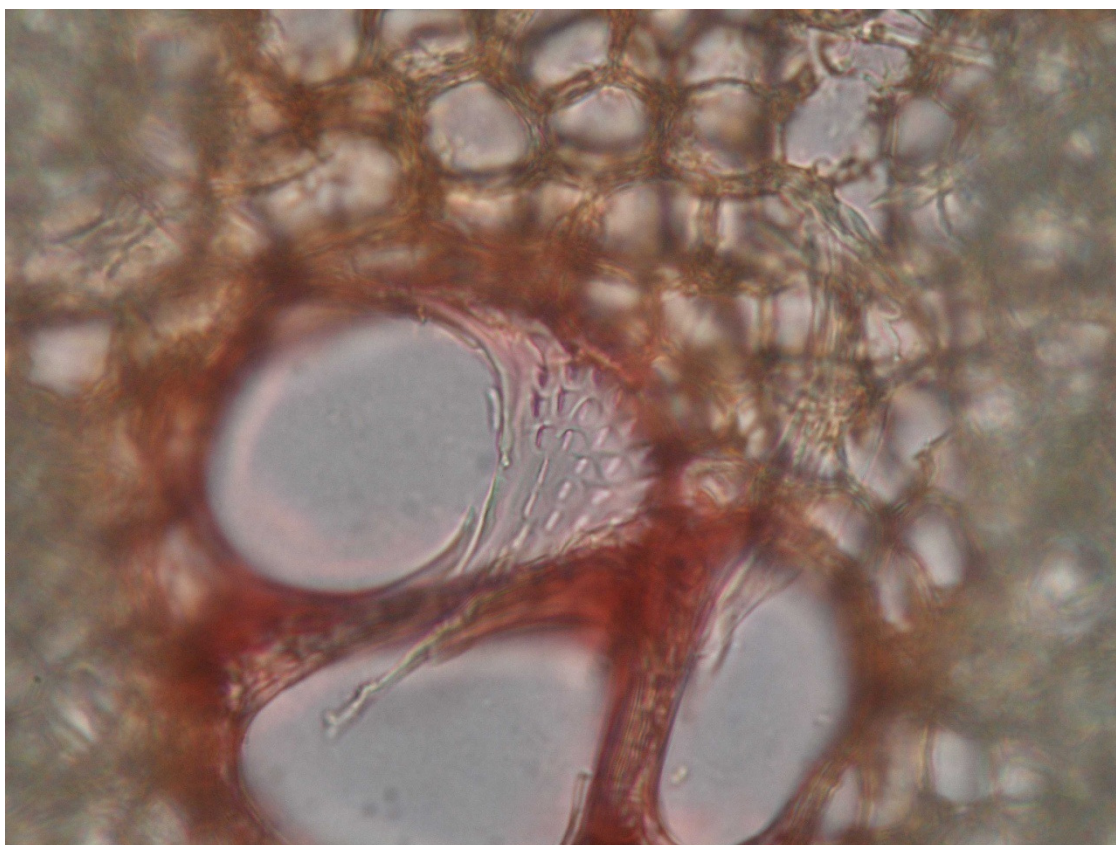


Obrázek 18 *G. uralensis* příčný řez stolonem





Obrázek 19 *G. uralensis* krystaly štavelanu vápenatého v kůře



Obrázek 20 *G. uralensis* tečkovaná céva



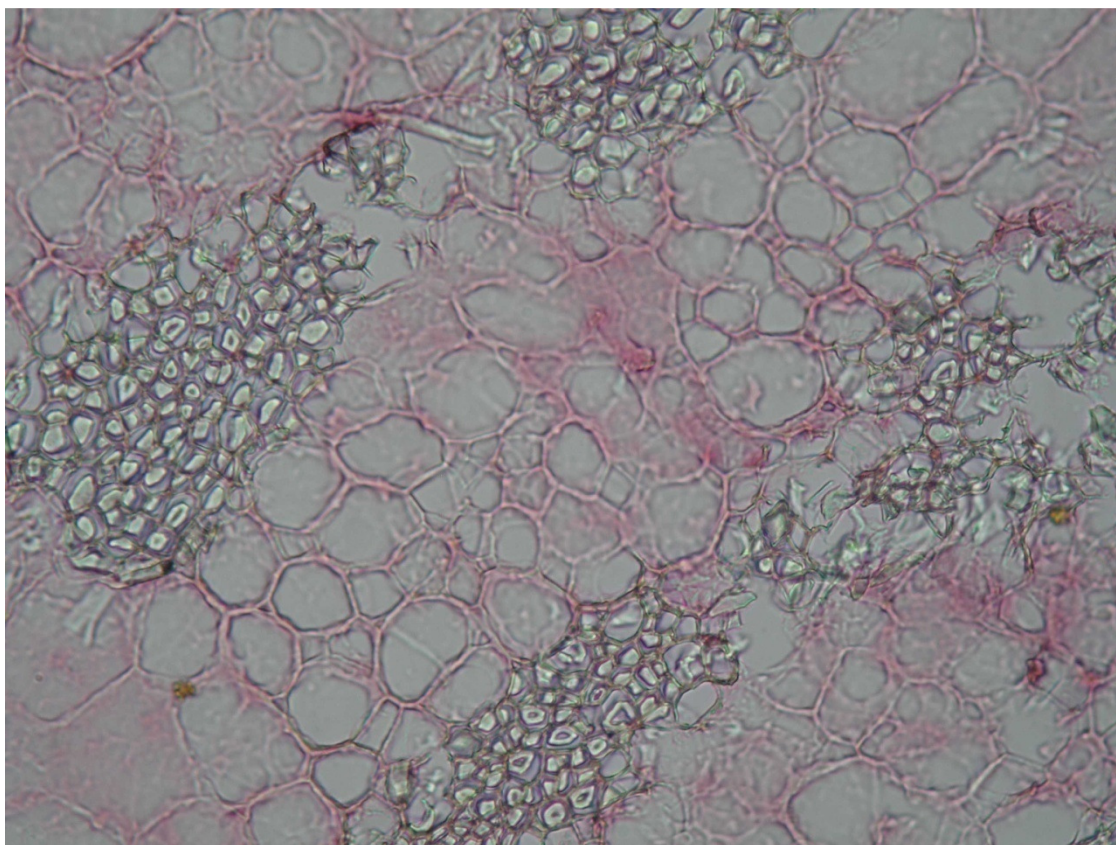


Obrázek 21 *G. uralensis* dřev

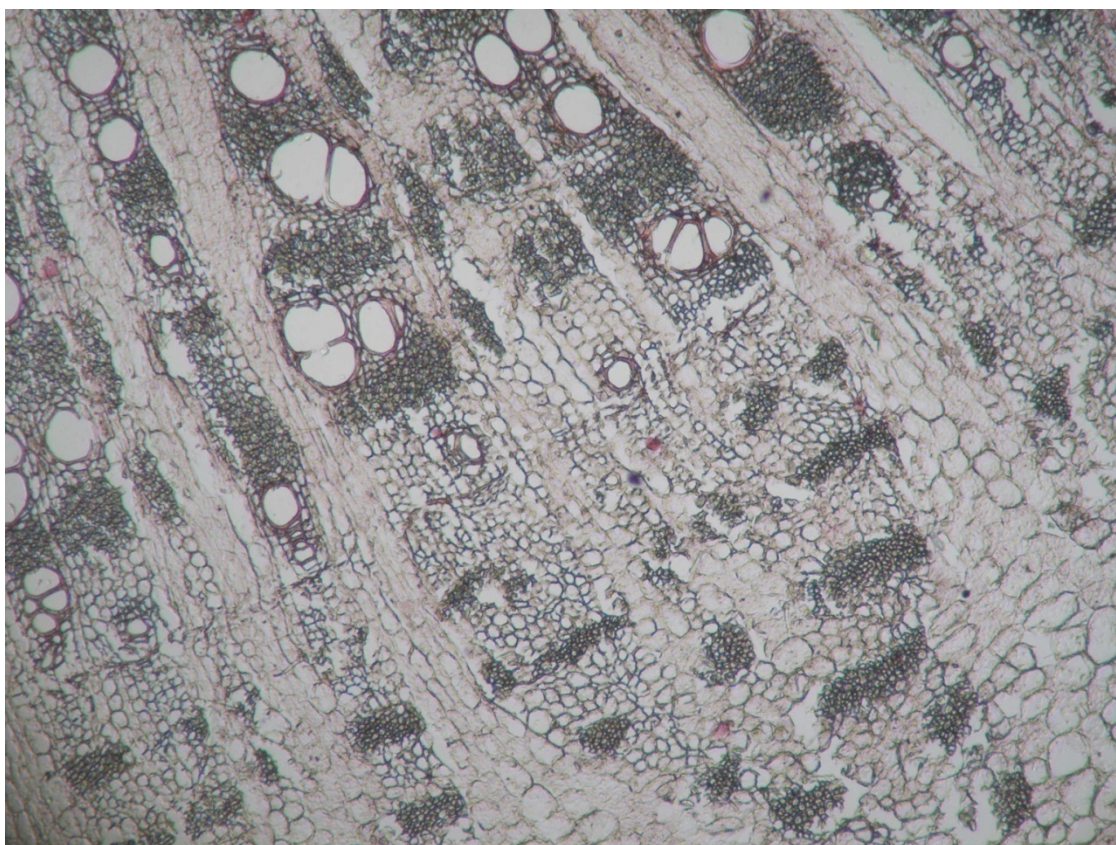
#### *Glycyrrhiza uralensis* – stolon

Korek stolonu druhého vzorku druhu *G. uralensis* je víceřadý (sedmiřadý), tvořený dlaždicovitým epitelem. Kůra je úzká, dvakrát užší než dřevo. V parenchymatických buňkách jsou škrobová zrna a krystaly šťavelanu vápenatého lichoběžníkovitého tvaru. Krystaly jsou  $22,63 \pm 9,14 \mu\text{m}$  dlouhé a  $11,82 \pm 3,43 \mu\text{m}$  široké. V sekundární kůře jsou skupiny lýkových vláken, obklopené komůrkovými vlákny (obr. 22). Sklerenchymatická vlákna o průměru  $7,21 \pm 1,69 \mu\text{m}$  jsou silnostěnná s úzkým lumenem. Skupiny lýkových vláken jsou uspořádány pyramidovitě a jsou široké  $104,71 \pm 42,34 \mu\text{m}$  x  $59,04 \pm 15,35 \mu\text{m}$ . Na rozhraní kůry a dřeva je zřetelné kambium. Ve dřevě jsou široké dřevové paprsky, zpravidla pěti až sedmiřadé. Cévy jsou tečkované, kulaté nebo oválné, umístěny samostatně nebo ve skupinách. Na vnějším průměru dosahují  $93,17 \pm 28,24 \mu\text{m}$  x  $74,50 \pm 23,84 \mu\text{m}$ . Jsou obklopené libriformem a cévicemi (obr. 23). Ve středu je dřev z parenchymatických buněk.





Obrázek 22 *G. uralensis* skupiny lýkových vláken v kůře

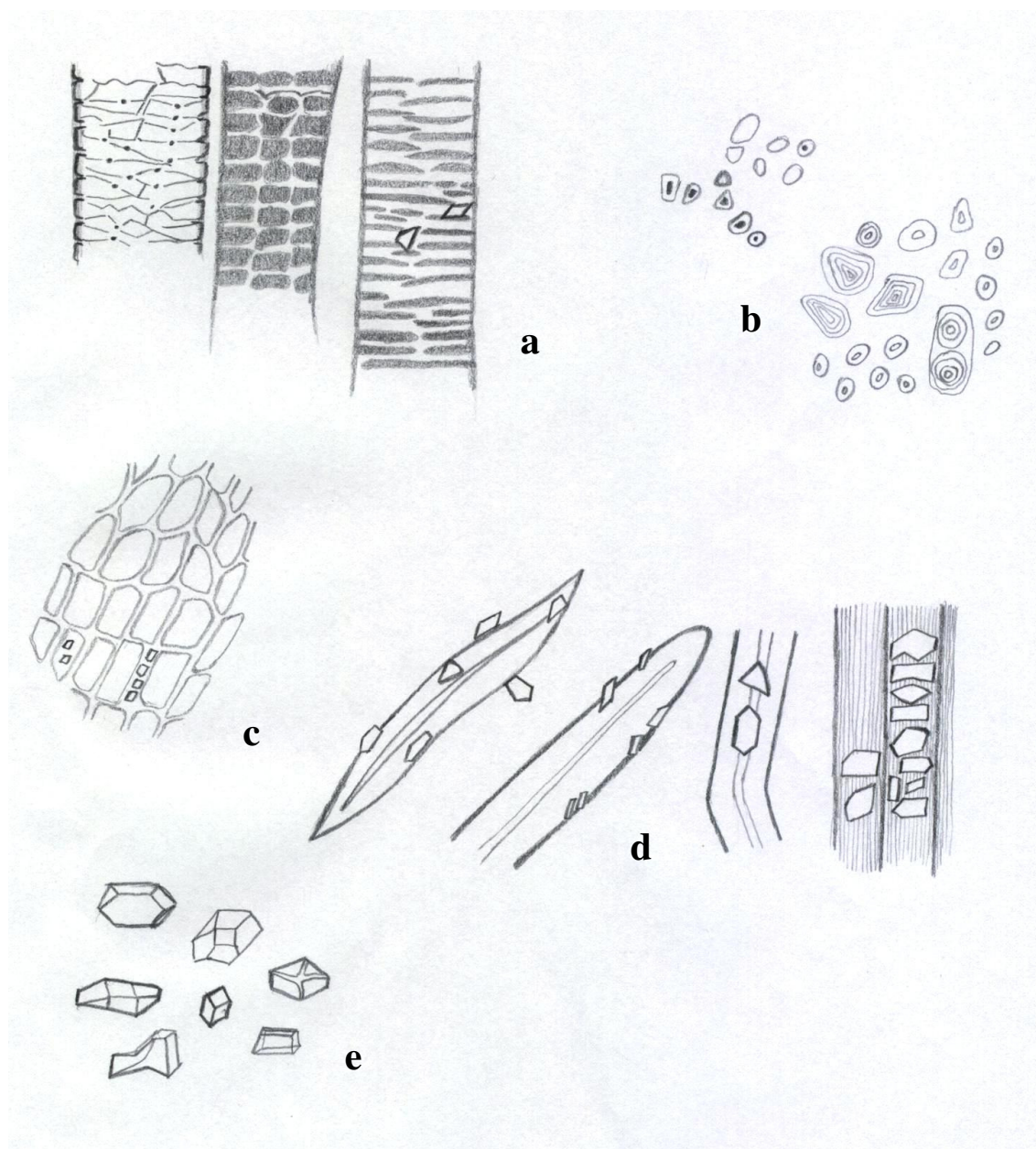


Obrázek 23 *G. uralensis* příčný řez stolonu



## 5.2 Mikroskopie práškované drogy

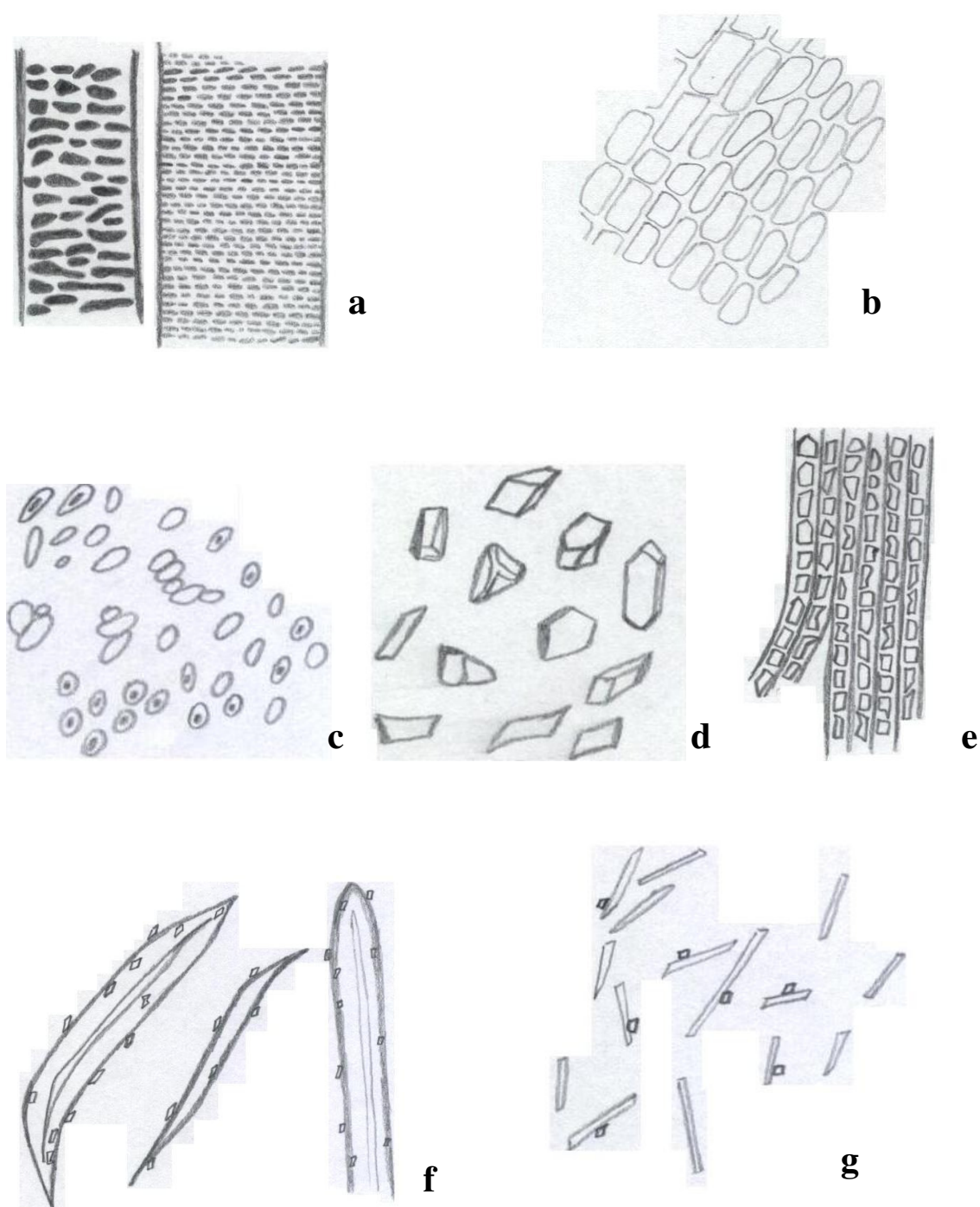
*G. pallidiflora* (obr. 24) typické útvary práškované drogy



Obrázek 24 *Glycyrrhiza pallidiflora*

Prášková droga: a - úlomky cév, b - škrobová zrna, c - parenchym kůry s krystaly šťavelanu vápenatého, d - sklerenchymatická vlákna s krystaly šťavelanu vápenatého, e - krystaly šťavelanu vápenatého

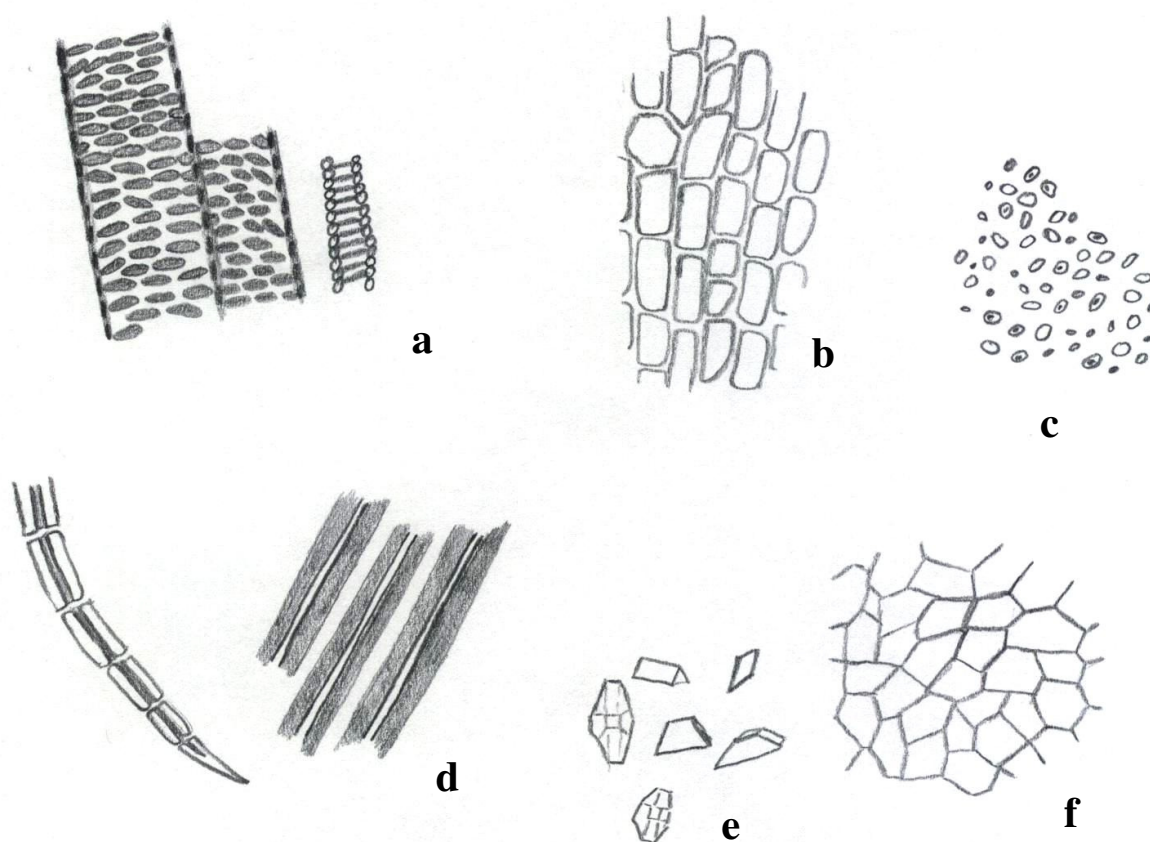
*G. echinata* (obr. 25) typické útvary práškované drogy



Obrázek 25 *Glycyrrhiza echinata*

Prášková droga: a - úlomky cév, b - parenchym kůry, c - škrobová zrna, d - krystaly šťavelanu vápenatého, e - komůrková vlákna, f - sklerenchymatická vlákna s krystaly šťavelanu vápenatého, g - úlomky sklerenchymatických vláken s krystaly šťavelanu vápenatého

*G. uralensis* (obr. 26) typické útvary práškované drogy



Obrázek 26 *Glycyrrhiza uralensis*

Prášková droga: a - úlomky cév, b - parenchym kůry, c - škrobová zrna, d - úlomky sklerenchymatických vláken, e - krystaly šťavelanu vápenatého, f - dřeň z parenchymatických buněk.



### 5.3 Počet a velikost charakteristických útvarů

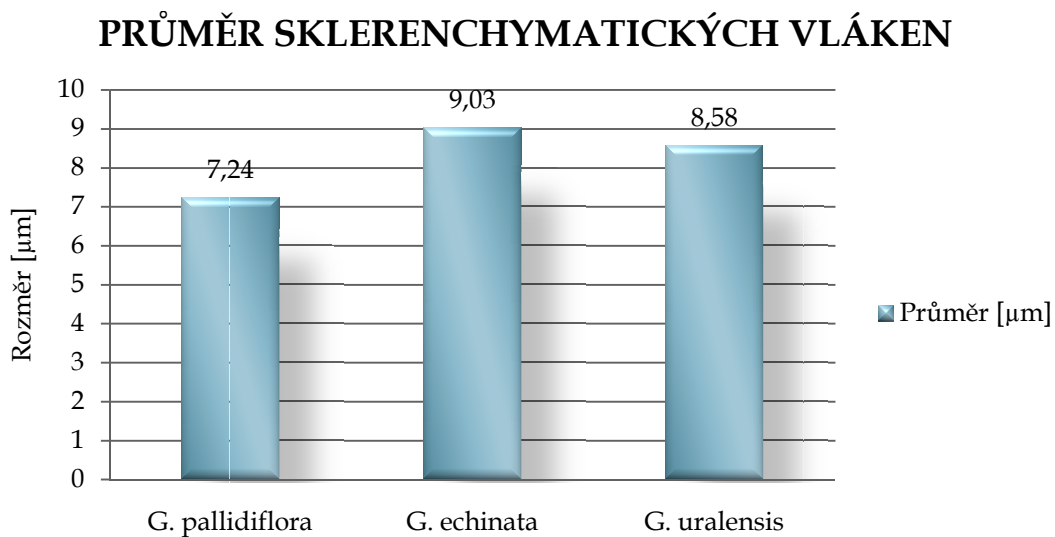
Počítání a měření útvarů proběhlo na třech trvalých preparátech každého vzorku. Skupiny lýkových vláken a krystaly štávelanu vápenatého byly měřeny a počítány na šesti místech každého preparátu. To odpovídá ploše 5,7 mm<sup>2</sup> pro skupiny lýkových vláken a ploše 1,4 mm<sup>2</sup> pro krystaly štávelanu vápenatého. V každém preparátu bylo změřeno 30 náhodně vybraných cév. Průměrná velikost a průměrný počet jsou vyjádřeny aritmetickým průměrem.

Velikost sklerenchymatických vláken je udána jako průměrná šířka vlákna. Velikost skupin lýkových vláken udává průměrnou šířku skupiny, určenou dvěma rozměry. Velikost krystalů štávelanu vápenatého vyjadřuje průměrnou délku a průměrnou šířku krystalů. Velikost cév udává průměrnou šířku cév, určenou dvěma rozměry, měřeno na vnějším průměru cévy.

Výsledky měření jsou v tabulkách č. 1 – 4 a v grafech č. 1 – 6. Pro skupiny lýkových vláken a krystaly štávelanu vápenatého jsou výsledky vyjádřeny dvěma grafy. První graf poskytuje srovnání průměrné velikosti útvarů (v mikrometrech) mezi jednotlivými druhy. Druhý graf porovnává průměrný počet sledovaných útvarů mezi třemi sledovanými druhy.

Pro cévy a sklerenchymatická vlákna jsou výsledky vyjádřeny pouze jedním grafem. Graf pro cévy zachycuje průměrné rozměry šířky cév (v mikrometrech), graf pro sklerenchymatická vlákna zachycuje průměrnou šířku vláken jednotlivých druhů.

### 5.3.1 Sklerenchymatická vlákna

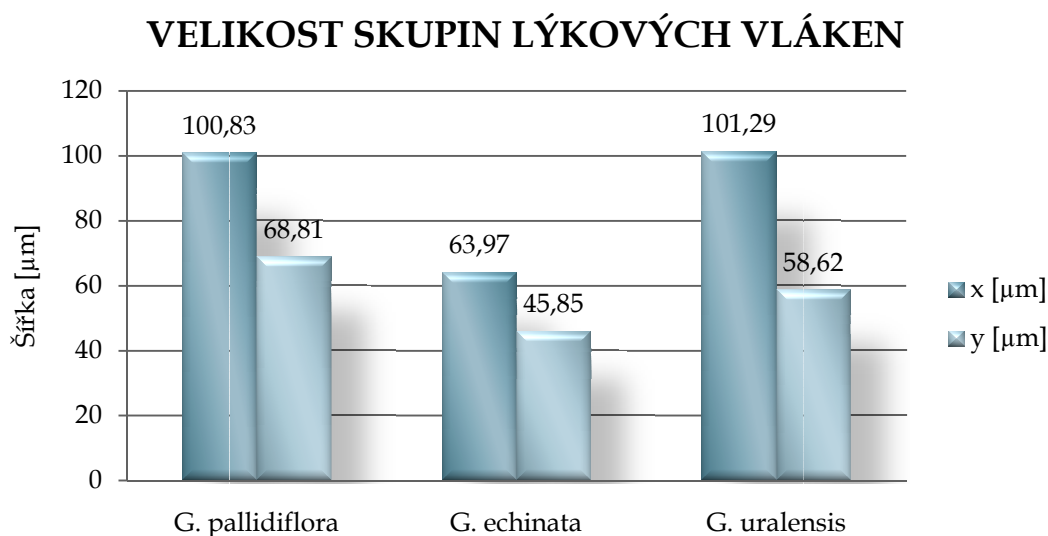


Graf 1 Průměr sklerenchymatických vláken

Druhy	<i>G. pallidiflora</i>	<i>G. echinata</i>	<i>G. uralensis</i>
Rozměr x	x	x	x
Průměrná hodnota [μm]	7,24	9,03	8,58
Směrodatná odchylka	2,54	9,47	5,59
Rozptyl [μm <sup>2</sup> ]	6,43	89,68	31,26
Standardní chyba	0,21	1,30	0,93

Tabulka 1 Soubor hodnot sklerenchymatických vláken

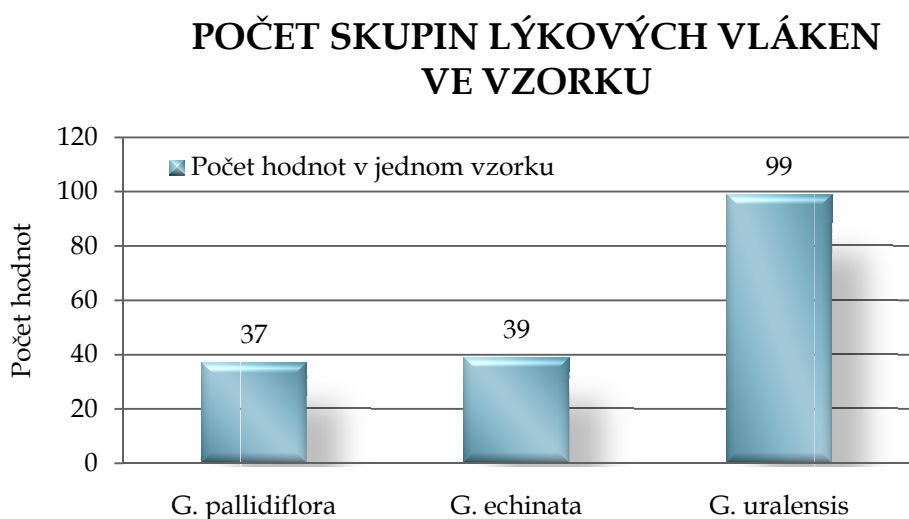
### 5.3.2 Skupiny lýkových vláken



Graf 2 Průměrná velikost skupin lýkových vláken

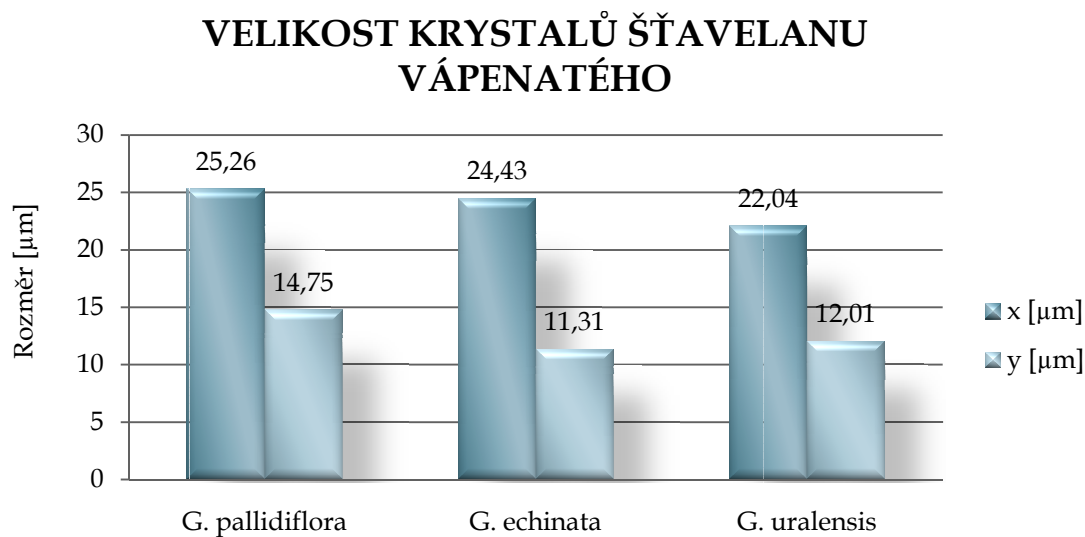
Druhy	<i>G. pallidiflora</i>		<i>G. echinata</i>		<i>G. uralensis</i>	
Rozměr x x y	x	y	x	y	x	y
Průměrná hodnota [μm]	100,83	68,81	63,97	45,85	101,29	58,62
Směrodatná odchylka	32,39	21,15	21,54	14,22	42,41	13,78
Rozptyl [μm <sup>2</sup> ]	1049,19	447,11	463,91	202,26	1799,00	189,78
Standardní chyba	2,18	1,42	2	1,32	1,74	0,57

Tabulka 2 Soubor hodnot skupin lýkových vláken



Graf 3 Průměrný počet skupin lýkových vláken na ploše 5,7mm<sup>2</sup>

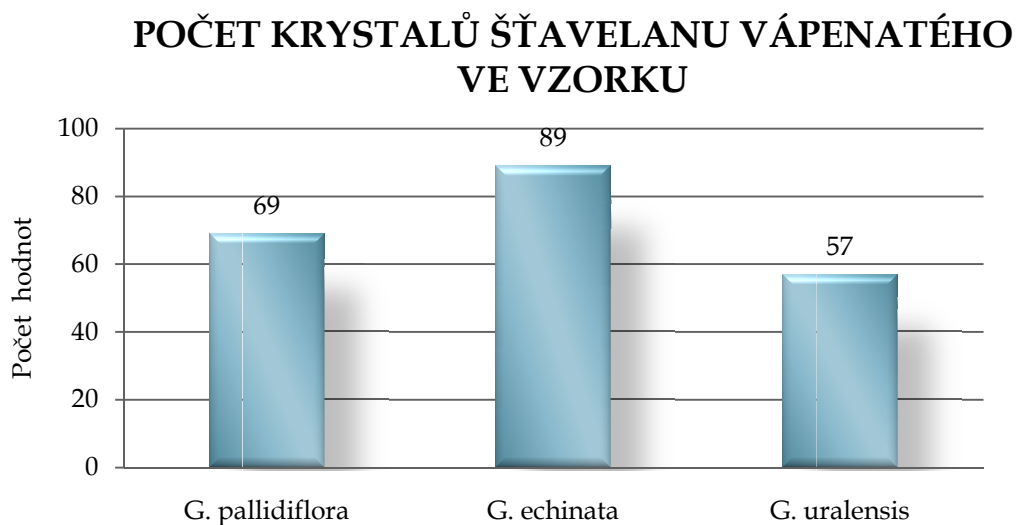
### 5.3.3 Krystaly šťavelanu vápenatého



Graf 4 Průměrná velikost krystalů šťavelanu vápenatého

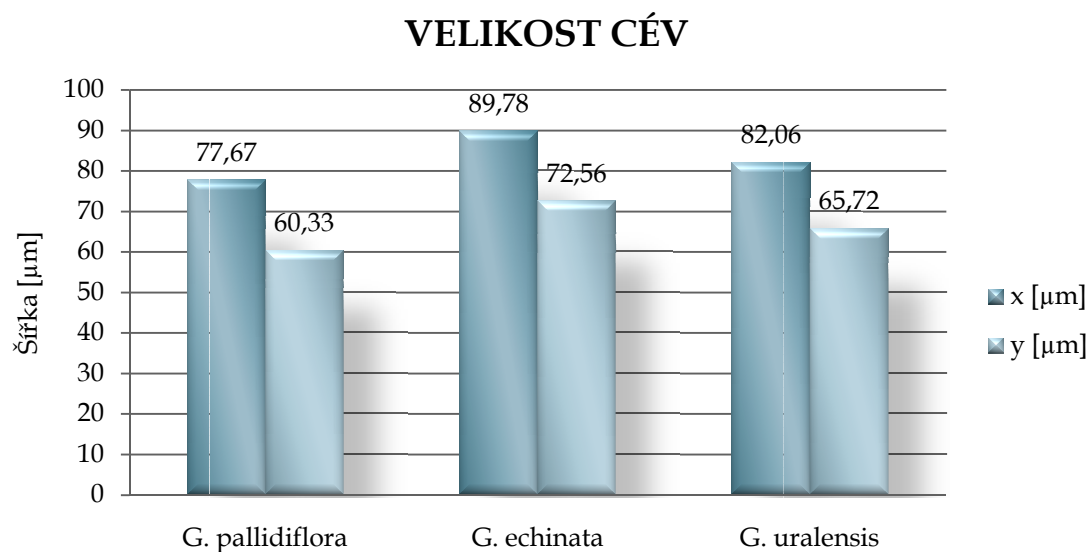
Druhy	<i>G. pallidiflora</i>		<i>G. echinata</i>		<i>G. uralensis</i>	
Rozměr x x y	x	y	x	y	x	y
Průměrná hodnota [ $\mu\text{m}$ ]	25,26	14,75	24,43	11,31	22,04	12,01
Směrodatná odchylka	11,07	5,31	10,23	3,76	9,17	3,54
Rozptyl [ $\mu\text{m}^2$ ]	122,46	28,23	104,62	14,14	84,01	12,5
Standardní chyba	0,55	0,26	0,44	0,16	0,50	0,19

Tabulka 3 Soubor hodnot krystalů šťavelanu vápenatého



Graf 5 Průměrný počet krystalů šťavelanu vápenatého na ploše 1,4mm<sup>2</sup>

### 5.3.4 Cévy



Graf 6 Průměrná šířka cév

Druhy	<i>G. pallidiflora</i>		<i>G. echinata</i>		<i>G. uralensis</i>	
Rozměr x x y	x	y	x	y	x	y
Průměrná hodnota [μm]	77,67	60,33	89,78	72,56	82,06	65,72
Směrodatná odchylka	31,51	26,01	33,01	25,68	25,48	22,45
Rozptyl [μm <sup>2</sup> ]	993,17	676,28	1089,95	659,58	649,39	503,92
Standardní chyba	2,36	1,94	3,5	2,72	1,90	1,68

Tabulka 4 Soubor hodnot cév

## 6 Diskuze

Dle Českého lékopisu 2009 je lékořicový kořen (*Liquiritiae radix*) definován jako usušený neloupaný nebo loupaný, celý nebo řezaný kořen a výběžky druhu *Glycyrrhiza glabra* L. a/nebo *Glycyrrhiza inflata* BAT. a/nebo *Glycyrrhiza uralensis* FISH. Obsahuje nejméně 4,0 % kyseliny glycyrrhizové ( $C_{42}H_{62}O_{16}$ ; Mr 822,9), počítáno na vysušenou drogu. (19)

K určení totožnosti drogy se využívá makroskopického popisu, mikroskopie a tenkovrstvé chromatografie. Zkouška totožnosti využívající mikroskopie je v ČL 2009 uvedena takto:

Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý až mírně našedlý. Pozoruje se pod mikroskopem v chloralhydrátu RS. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky žlutých silnostěnných vláken 700  $\mu\text{m}$  až 1200  $\mu\text{m}$  dlouhých, o průměru 10  $\mu\text{m}$  až 20  $\mu\text{m}$  s tečkovaným lumenem, často provázených komůrkovými vlákny s krystaly šťavelanu vápenatého, které jsou 10  $\mu\text{m}$  až 35  $\mu\text{m}$  dlouhé a 2  $\mu\text{m}$  až 5  $\mu\text{m}$  široké. Stěny velkých cév jsou žluté, 5  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$  silné, zdřevnatělé s četnými dvůrkatými ztenčeninami a štěrbinovitými otvory; úlomky korku s tenkostěnnými buňkami a jednotlivými krystaly šťavelanu vápenatého; krystaly šťavelanu vápenatého se nacházejí i v úlomcích parenchymu. U loupaného kořene úlomky korku chybí. Pozoruje se pod mikroskopem ve směsi stejných objemových dílů glycerolu R a vody R; v droze jsou patrná okrouhlá nebo oválná škrobová zrna o průměru 2  $\mu\text{m}$  až 20  $\mu\text{m}$ . (19)

Srovnáním anatomické stavby na příčných řezech kořenů a stolonů jsem zjistila mezi jednotlivými druhy drobné rozdíly. Pro malý počet vzorků jsou údaje statisticky nevýznamné.

Korová část *G. pallidiflora* je širší než dřevní část, zatímco *G. echinata* a *G. uralensis* mají úzkou kůru a široké dřevo.

Sklerenchymatická vlákna jsou silnostěnná, s úzkým lumenem. Některá vlákna jsou obalena krystaly šťavelanu vápenatého. *G. echinata* má nejširší sklerenchymatická vlákna, *G. uralensis* jen o méně než půl mikrometru užší a *G. pallidiflora* je má nejtenčí.

V kůře jsou sklerenchymatická vlákna nahloučená ve skupinách. Jednotlivé vzorky se od sebe liší ve velikosti, počtu a rozmístění těchto skupin. *G. echinata* má skupiny v porovnání s ostatními vzorky výrazně menší, většinou mírně protáhlého tvaru a v kůře jsou nepravidelně rozmístěné („rozházené“). *G. pallidiflora* má v kůře téměř stejný počet skupin lýkových vláken jako *G. echinata*. Skupiny jsou umístěny nad sebou, směrem ke dřevu se zvětšují. Svým tvarem připomínají ovál nebo obdélník. Nejvíce skupin lýkových vláken má

*G. uralensis*, a to téměř třikrát více než ostatní druhy. Skupiny jsou obdélníkového tvaru a mají jednu stranu výrazně delší. Směrem ke dřevu se zvětšují a výrazně protahují. Skupiny jsou umístěné nad sebou a na řezu připomíná celé seskupení protáhlý kužel.

Krystaly šťavelanu vápenatého jsou ve všech vzorcích hojně zastoupeny a mají lichoběžníkovitý tvar. Nejvíce jich má *G. echinata*, nacházejí se především v kůře, kde tvoří velké shluky. Krystaly jsou v porovnání s ostatním vzorky podobně dlouhé, ale o něco užší. U velkého množství krystalů můžeme vidět, že jsou v polovině příčně rozpůlené. Rozpůlení se u některých jeví jako čára u jiných je zřetelná mezera a je charakteristické zejména pro tento druh, i když podobnou trhlinu můžeme vidět i u některých krystalů *G. uralensis*. *G. pallidiflora* má méně krystalů než *G. echinata*, avšak v kůře jsou rovnoměrněji roztroušené. Nejméně krystalů se nachází u *G. uralensis*.

Sítkovice bývají dobře viditelné u *G. pallidiflora* a *G. echinata*. *G. uralensis* nemá dobře viditelné sítkovice, ale na přechodu mezi kůrou a dřevem můžeme pozorovat útržky kambia.

Ze dřeva do kůry prochází široké dřevové paprsky, které se směrem ke kůře značně rozšiřují. Nejužší dřevové paprsky má *G. echinata* a to tří až pětiřadé. Širší dřevové paprsky má *G. uralensis*, nejširší *G. pallidiflora*. *G. uralensis* má podél dřevových paprsků protáhlé dutinky, které v menší míře najdeme i u *G. pallidiflora*.

Ve dřevě jsou tečkované cévy obklopené cévicemi a libriformem. *G. echinata* má velké, téměř kulaté cévy, umístěné převážně jednotlivě, méně ve skupinách. *G. uralensis* má cévy o něco menší, kruhové nebo oválné, umístěné jednotlivě anebo do malých skupin po dvou nebo po třech cévách. *G. pallidiflora* má spíše oválné cévy, které tvoří skupiny, ale vyskytují se i samostatně.

Jak je patrné z obr. 24 – 26, tak v práškové droze jsou patrné ve všech druzích stejné útvary (úlomky cév, škrobová zrna, parenchym kůry, sklerenchymatická vlákna s krystaly šťavelanu vápenatého, jednotlivé krystaly šťavelanu vápenatého, úlomky sklerenchymatických vláken s krystaly šťavelanu vápenatého, a krystaly šťavelanu v komůrkových vláknech).

Znaky zjištěné v práškové droze z *G. uralensis* by měly být ve shodě s popisem drogy *Liquiritiae radix* v lékopise. Rozměry útvarů u drogy z *G. uralensis* se plně neshodují s rozměry, které udává lékopis. Sklerenchymatická vlákna jsou užší, stěny cév jsou slabší a krystaly šťavelanu vápenatého odpovídají svou délkou, ale jsou mnohem širší.

Z druhů rodu *Glycyrrhiza*, které jsem hodnotila ve své práci, je pouze *G. uralensis* uvedena v lékopise mezi matečnými rostlinami drogy; druhy *G. echinata* ani *G. pallidiflora* matečnými rostlinami lékopisné drogy nejsou.

Rozdíly, zjištěné v anatomické stavbě podzemních orgánů, nám sice umožňují odlišit jednotlivé druhy, ale to jen v případě, že máme k dispozici příčný řez kořene příp. stolonu. Tyto rozdíly, které mezi jednotlivými drogami vyniknou na průřezu – viz zejména obr. 11, 12, 16, 18, 23 poskytují možnost rozlišit i tak podobné drogy jako byly ty, v práci studované.

Mikroskopií práškované drogy nelze postihnout výraznější rozdíly mezi sledovaným lékopisným a nelékopisnými druhy *Glycyrrhiza* sp.. Porušení nebo záměna lékopisné drogy *Liquiritiae radix* práškovanými kořeny či stolony druhů *G. echinata* a/nebo *G. pallidiflora* se mikroskopií práškované drogy prakticky nezachytí.



## 7 Závěr

U kořenů a výběžků druhů *G. pallidiflora*, *G. echinata* a *G. uralensis* byla popsána anatomická stavba a byly změřeny a spočítány charakteristické útvary využitelné pro identifikaci drogy. Byla zjištěna velikost sklerenchymatických vláken, skupin lýkových vláken, krystalů šťavelanu vápenatého, cév a průměrné množství skupin lýkových vláken a krystalů šťavelanu vápenatého.

Jednotlivé druhy se liší, jak v počtu, tak i ve velikosti sledovaných útvarů. Pro malý počet vzorků nemůžeme tyto výsledky považovat za statisticky významné.

Podle anatomické stavby kořenů a stolonů je možné rozlišit především *G. uralensis* od *G. pallidiflora* a *G. echinata*. *G. pallidiflora* a *G. echinata* se liší v poměru velikosti kůry a dřeva, v uspořádání skupin lýkových vláken, množství krystalů šťavelanu vápenatého, šířce dřevových paprsků, přítomnosti protáhlých dutinek ve dřevě.

Získané výsledky naznačují, že by k mikroskopickému rozlišení těchto tří druhů mohlo být využito počtu a velikosti skupin lýkových vláken a krystalů šťavelanu vápenatého. Krystaly šťavelanu vápenatého, které mají u všech druhů shodný tvar a jsou přibližně stejně velké (22,04 - 25,26  $\mu\text{m}$  x 11,31 - 14,75  $\mu\text{m}$ ), jsou nejvíce zastoupeny v *G. echinata*. Sklerenchymatická vlákna, která jsou tlustá 7,25 - 9,03  $\mu\text{m}$  jsou nejvíce v *G. uralensis*, ale největší skupiny sklerenchymatických vláken jsou v *G. pallidiflora* a *G. uralensis*.

## 8 Použitá literatura

- (1) Qingying Zhang, Min Ye: Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). J Chromatogr A, 2009; 1216, 1954-1969
- (2) Kresánek, J. a kol.: Atlas léčivých rostlín a lesných plodov. 1. vyd. Martin, Osveta, 1977, s. 554-557.
- (3) Hayashi, H., Sudo, H.: Economic importance of licorice. Plant Bioechnol, 2009; 26, 101-104
- (4) Hegnauer, R., Hegnauer, M.: Chemotaxonomie der Pflanzen. Xlb-2, Leguminosae, Teil 3. 1. vyd. Basel, Birkhäuser Verlag 2001, s. 595.
- (5) Slavík, B.: Květena České republiky. 4; 1.vyd, Praha, Academia, 1995, s. 378.
- (6) Hiroaki, H., Etsuko, M., Kenichiro, I.: Phylogenetic Relationship of *Glycyrrhiza lepidota*, American Licorice, in Genus *Glycyrrhiza* Based on rbcL Sequences and Chemical Constituents. Biol Pharm Bull, 2005; 28, 161-164
- (7) Tomko, J. a kol.: Farmakognózia. Učebnica pre farmaceutické fakulty. 1. vyd. Martin, Osveta 1989, s. 224-225.
- (8) Kajiyama, K., Hiraga, Y., Takhashi, K., Hirata, S., Kobayashi, S., Sankawa, U.: Flavonoids and isoflavonoids of chemotaxonomic significance from *Glycyrrhiza pallidiflora* (Leguminosae). Biochem Syst Ecol, 1993; 21, 785-793
- (9) Murav'ev, I. A., Semenchenko, V. F, Kukhareva, L. V.: Macedonic acid from the roots of *Glycyrrhiza pallidiflora*. Chem Nat Comp, 1971; 7, 116
- (10) Cai, L. N., Zhang, R. Y., Wang, B., Qiao, L., Huang, L. R., Zhang, Z. L.: Studies on the chemical constituents of *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim. Yao Xue Xue Bao, 1992; 27, 748-751
- (11) <http://wwwts9.nibio.go.jp/zukan/photo0137.html> 30.11.2009
- (12) [http://www.picsearch.com/info.cgi?q=glycyrrhiza%20echinata&id=ioS6strhQ3cjNvD\\_cza-uqo7bT5xiJ5\\_DTVcNtX8\\_IY](http://www.picsearch.com/info.cgi?q=glycyrrhiza%20echinata&id=ioS6strhQ3cjNvD_cza-uqo7bT5xiJ5_DTVcNtX8_IY) 2.4.2010
- (13) Ayabea, S.I., Kobayashia, M., Hikichia, M., Matsumotoa, K., Furuyaa, T.: Flavonoids from the cultured cells of *Glycyrrhiza echinata*. Phytochemistry, 1980; 19, 2179-2183
- (14) <http://www.szestabor.cz/botanicka/index.php?idc=3&rostlina=146> 30.11.2009
- (15) Grankina, V. P., Savchenko, T. I., Chankina, O. V., Kovalskaya, G. A., Kutzenogii, K. P.: Trace element composition of Ural licorice *Glycyrrhiza uralensis* FISH (*Fabaceae* Family). Contemp Probl Ecol, 2009; 2, 396-399

- (16) Miraldi, E., Ferri, S., Mostaghimi, V.: Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *J Ethnopharmacol*, 2001; 75, 77-87.
- (17) <http://www.e-yakusou.com/sou/sou185-2.htm> 15.04.2010
- (18) Kondo, K., Shiba, M., Nakamura, R., Morota, T., Shoyama, Y.: Constituent Properties of Licorices Derived from *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra*, or *G. inflata* Identified by Genetic Information. *Biol Pharm Bull*, 2007; 30, 1271-1277
- (19) Český lékopis 2009 – 2. díl. 1. vyd. Praha, Grada 2009, s. 2485-2486.
- (20) Jahodář, L., Melicharová, E., Potrusilová, D.: Makroskopický a mikroskopický atlas drog I. díl. 1. vyd. Brno, IDV PZ, 1999, s. 124-125.
- (21) Spilková, J.; Dušek, J.: Praktická cvičení z farmakognosie. Mikroskopie drog. 2. vyd. Praha, Karolinum, 2006, s. 57.
- (22) Řezáčková, Alena: Praktická cvičení z farmakognosie. Makroskopie a mikroskopie drog – I. Obecná část. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova, 1976, s. 75.
- (23) Nultsch, W.: Mikroskopisch-Botanisches Praktikum für Anfänger. 11. vyd. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 2001 s. 57
- (24) Bruneton, J.: Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. 2. vyd. New York, Intercept Ltd 1999, s. 688-694.
- (25) <http://www.scribd.com/doc/18933342/Plant-Anatomy> 2.12.2009
- (26) [http://www.depts.ttu.edu/aged/tard/index.php?mode=Listing&rl\\_id=3366](http://www.depts.ttu.edu/aged/tard/index.php?mode=Listing&rl_id=3366) 2.12.2009
- (27) Jelínek, J., Zicháček, V.: Biologie pro gymnázia. 4. vyd. Olomouc, Nakladatelství Olomouc, 2000, s. 26
- (28) Shabani, L., Ehsanpour, A. A., Asghari, G., Emami, J.: Glycyrrhizin Production by *In vitro* Cultured *Glycyrrhiza glabra* Elicited by Methyl Jasmonate and Salicylic Acid. *Russ J Plant Physiol*, 2009; 56, 621-626
- (29) Menegazzi, M., Di Paola, R., Mazzon, E., Genovese, T., Crisafulli, C., Dal Bosco, M., Zou, Z., Suzuki, H., Cuzzocrea, S.: Glycyrrhizin attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Pharmacol Res*, 2008; 58, 22-31
- (30) Seki, H., Ohyama, K., Sawai, S, Mizutani, M., Ohnishi, T., Sudo, H., Akashi, T., Aoki, T., Saito, K., Muranaka, T.: Licorice  $\beta$ -amyrin 11-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener Glycyrrhizin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008; 105, 14204-14209
- (31) [http://www.rikenresearch.riken.jp/images/figures/hi\\_4008.jpg](http://www.rikenresearch.riken.jp/images/figures/hi_4008.jpg) 23.12.2009

- (32) Johns, C.: Glycyrrhizic acid toxicity caused by consumption of licorice candy cigars. *Canad J Emerg Med*, 2009; 11, 94-96
- (33) Isbrucker, R. A., Burdock, G. A.: Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharm*, 2006; 46, 167-192.
- (34) Ercisli, S., Coruh, I., Gormez, A., Sengul, M., Bilen, S.: Total phenolics, mineral contents, antioxidant and antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. roots grown wild in Turkey. *Ital Journal Food Sci*, 2008; 20, 91-99
- (35) Furusawa, J. I., Funakoshi-Tago, M., Tago, K., Mashino, T., Inoue, H., Sonoda, Y., Kasahara, T.: Licochalcone A significantly suppresses LPS signaling pathway through the inhibition of NF-kappa B p65 phosphorylation at serine 276. *Cell Signal*, 2009; 21, 778-785
- (36) Tsuruoka, N., Abe, K., Wake, K., Takata, M., Hatta, A., Sato, T., Inoue, H.: Hepatic protection by Glycyrrhizin and inhibition of iNOS expression in concanavalin A-induced liver injury in mice. *Inflamm Res*, 2009; 58, 593-599
- (37) Lee, J. R., Park, S. J., Lee, H. S., Jee, S. Y., Seo, J., Kwon, Y. K., Kwon, T. K., Kim, S. C.: Hepatoprotective Activity of Licorice Water Extract against Cadmium-induced Toxicity in Rats. *Evid-Based Compl Alt*, 2009; 6, 195-201
- (38) Wolkerstorfer, A., Kurz, H., Bachhofner, N., Szolar, O. H. J.: Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell. *Antivir Res*, 2009; 83, 171-178
- (39) Yi-Te Yo, Gia-Shing Shieh, Keng-Fu Hsu, Chao-Liang Wu, Ai-Li Shiau: Licorice and Licochalcone-A Induce Autophagy in LNCaP Prostate Cancer Cells by Suppression of Bcl-2 Expression and the mTOR Pathway. *J Agric Food Chem*, 2009; 57, 8266-8273
- (40) Zamansoltani, F., Nassiri-Asl, M., Sarookhani, M. R., Jahani-Hashemi, H., Zangivand, A. A.: Antiandrogenic activities of *Glycyrrhiza glabra* in male rats. *Int J Androl*, 2009; 32, 417-422
- (41) Dulíková, L.: Výživa dítěte s diabetem: Bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta, 2007, s. 24
- (42) Kinoshita, H., Okabayashi, M., Kaneko, M., Yasuda, M., Abe, K., Machida, A., Ohkubo, T., Kamata, T., Yakushiji, F.: Shakuyaku-kanzo-to Induces Pseudoaldosteronism Characterized by Hypokalemia, Rhabdomyolysis, Metabolic

- Alkalosis with Respiratory Compensation, and Increased Urinary Cortisol Levels. *J Altern Complem Med*, 2009; 15, 439-443
- (43) Wichtl, M. et al.: *Teedrogen und Phytopharmaka*. 5. vyd. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2009, s.399.
- (44) Zenone, T., Blanc, Q.: Rhabdomyolysis with major hypokalemia secondary to chronic glycyrrhizic acid ingestion. *Rev Med Interne*, 2009; 30, 78-80
- (45) Wai Yen Alfred Lim, Yoke Yin Chia, Shih Yeen Liong, So Ha Ton, Khalid Abdul Kadir, Sharifah Noor Akmal Syed Husain: Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally-administered glycyrrhizic acid-treated rats. *Lipids Health Dis*, 2009; 8, 31
- (46) Lin, S. P., Tsai, S. Y., Hou, Y. C., Chao, P. D. L.: Glycyrrhizin and Licorice Significantly Affect the Pharmacokinetics of Methotrexate in Rats. *J Agric Food Chem*, 2009; 57, 1854-1859
- (47) Eschrich, W.: *Pulver-Atlas der Drogen*. 7. vyd. Stuttgart Deutscher Apothekere Verlag, 1999, s.48-49.
- (48) Deryng, J.: *Atlas sproszkowanych roślinnych surowców leczniczych*. 1. vyd. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 1961, s. 378.